

SÉRIE A, N° 3749.
N° D'ORDRE : 4600.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

André BERKALOFF

Première thèse : CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES TUBES DE
MALPIGHI ET DE L'EXCRÉTION CHEZ LES INSECTES. OBSER-
VATIONS AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE.

Deuxième thèse : PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 6 juin 1961 devant la commission d'examen.

MM. P. GRASSÉ.....	<i>Président.</i>
A. THOMAS.....	} <i>Examineurs.</i>
R. COUTEAUX.....	

PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN (VI^e)

1961

SÉRIE A, N° 3749
N° D'ORDRE : 4600.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

André BERKALOFF

Première thèse : CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES TUBES DE
MALPIGHI ET DE L'EXCRÉTION CHEZ LES INSECTES. OBSER-
VATIONS AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE.

Deuxième thèse : PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 6 juin 1961 devant la commission d'examen.

MM. P. GRASSÉ..... *Président.*

A. THOMAS..... } *Examineurs.*
R. COUTEAUX..... }



PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN (VI^e)

1961

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen. J. PÉRÈS.

PROFESSEURS

MM.			MM.		
G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	VASSY	T	Physique de l'Atmosphère.
DE BROGLIE	T	Théories physiques.	DESTOUCHES	T	Théories physiques.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.	PRUVOST	T	Géologie.
PÉRÈS	T	Mécanique des fluides et applications.	AMIEL	T	Chimie des solides.
BOURCART	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	HOCART	T	Minéralogie et Cristallographie.
PLANTEFOL	T	Botanique.	J.-P. MATHIEU	T	Recherches physiques.
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.	COUTEAUX	T	Biologie animale (P. C. B.).
PRÉVOST	T	Chimie organique.	MAY	T	Zoologie (Orsay).
BOULIGAND	T	Analyse appliquée à la géométrie.	CHOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.	FELDMANN	T	Biologie végétale (P. C. B.).
WYART	T	Minéralogie et Cristallographie.	GUINIER	T	Physique des solides (Orsay).
TEISSIER	T	Zoologie.	JOST	T	Physiologie comparée.
MANGENOT	T	Biologie végétale (Orsay).	FORTET	T	Calcul des probabilités.
AUGER	T	Physique quantique et Relativité.	SCHWARTZ	T	Calcul différentiel et intégral.
MONNIER	T	Physiologie des fonctions.	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.	MALAVARD	T	Aviation (Technique aéronautique).
ROCARD	T	Physique (E. N. S.).	BRELOT	T	Calcul différentiel.
CARTAN	T	Mathématiques (E. N. S.).	NORMANT	T	Synthèse organique générale.
LAFFITTE	T	Chimie générale.	BENARD	T	Chimie (E. N. S. C. P.).
FAVARD	T	Géométrie supérieure.	BUVAT	T	Botanique (E. N. S.).
COULOMB	T	Physique du Globe.	DUGUÉ	T	Statistiques mathématiques.
M ^{lle} COUSIN	T	Biologie.	SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	ULRICH	T	Physiologie végétale (E. N. S.).
DRACH	T	Zoologie.	MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
KASTLER	T	Physique (E. N. S.).	KIRRMANN	T	Théories chimiques.
ÉPHRUSSI	T	Génétique.	CHADEFAUD	T	Botanique.
RIVIÈRE	T	Géologie (Orsay).	M ^{lle} LE BRETON	T	Physiologie.
GAUTHERET	T	Biologie (P. C. B.).	SALEM	T	Mathématiques générales.
LUCAS (R.)	T	Recherches physiques.	LELONG	T	Mathématiques générales.
THOMAS (A.)	T	Biologie cellulaire.	DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie comparées.
ARNULF	T	Optique appliquée.	EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
MORAND	T	Physique Enseignement.	FRANÇON	T	Physique (S. P. C. N.).
SOLEILLET	T	Physique (P. C. B.).	GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides.	GODEMENT	T	Mathématiques (M. P. C.).
DANJON	T	Astronomie.	PISOT	T	Calcul des probabilités.
PETIT	T	Biologie maritime.	ROCH	T	Géologie.
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.	SCHATZMAN	T	Astrophysique.
GALLIEN	T	Embryologie.	TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique.
EICHORN	T	Biologie végétale (P. C. B.).	ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (S. P. C. N.).	LENNUIER	T	Physique (P. C. B.).
M ^{lle} CAUCHOIS	T	Chimie physique.	RIZET	T	Génétique (Orsay).
THELLIER	T	Physique du Globe.	ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
L'HÉRITIER	T	Biologie générale (Orsay).	M ^{me} TONNELAT	T	Relativité.
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay).	DIXMIER	T	Mathématiques (M. P. C.).
PONCIN	T	Mécanique générale.	SOUCHAY	T	Chimie (P. C. B.).
DUBREIL	T	Arithmétique et Théorie des nombres.	AIGRAIN	T	Électrotechnique générale
QUELET	T	Chimie organique.	BRUSSET	T	Chimie minérale.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.	M. LEVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.	M ^{me} CHAIX	T	Chimie biologique.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.	M ^{me} HUREL-PY	T	Biologie végétale (P. C. B.).
JUNG	T	Pétrographie.	PIAUX	T	Chimie (S. P. C. N.).
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.	BRUN	T	Mécanique expérimentale des fluides.
WIEMANN	T	Chimie organique et structurale.			
JACQUINOT	T	Spectroscopie (Orsay).			

MM.

LEDERER.	T	Chimie biologique.
M ^{me} DUBREIL.	T	Mathématiques (Agrég.).
M ^{me} LELONG.	T	Mathématiques (E. N. S.).
BELLAIR.	T	Géologie (S. P. C. N.).
COTTE.	T	Physique (M. P. C.).
DUBOIS (J.-E.).	T	Chimie (M. P. C.).
LAMOTTE.	T	Zoologie (E. N. S.).
MICHEL (André).	T	Chimie minérale (Orsay).
OLMER.	T	Énergétique générale.
ROUAULT.	T	Physique.
GAUTHIER.	T	Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ.	T	Chimie physique.
BROSSEL.	T	Physique atomique.
BUSER.		Biologie animale (P. C. B.).
CAMUS.		Biologie végétale (P. C. B.).
CASTAING.	T	Physique (Orsay).
CURIEN.	T	Minéralogie et Cristallographie.
MOYSE.	T	Physiologie végétale (Orsay).
PANNETIER.	T	Chimie (Orsay).
POSSOMPES.	T	Biologie animale (P. C. B.).
PULLMANN.		Chimie théorique.
TEILLAC.	T	Physique nucléaire et Radioactivité (Orsay).
TONNELAT.		Biologie physico-chim.
VILLE.	T	Économétrie.
WILLEMART.		Chimie (P. C. B.).
DODE.	T	Chimie (Orsay).
FREYMANN.	T	Physique (S. P. C. N.).
GUINOCHE.	T	Biologie végétale (Orsay).
ROLLET.	T	Chimie (P. C. B.).
M ^{lle} JOSIEN.	T	Chimie (P. C. B.).
CHEVALLEY.	T	Géométrie algébrique et Théorie des groupes.
ARNOULT.	T	Électronique (Orsay).
CHAPELLE.	T	Physique (Orsay).
DELANGE.	T	Mathématiques (Orsay).
DENY.	T	Mathématiques générales (Orsay).
GERMAIN.	T	Mécanique théorique des fluides.
LUCAS (G.).	T	Géologie.
ALLARD.	T	Chimie physique.
BERTHELOT.	T	Physique fondamentale des Hautes énergies (Orsay).
BRICARD.	T	Météorologie.
M ^{me} ALBE-FESSARD.		Psychophysiologie.
FRIEDEL.		Physique des solides (Orsay).
M. JULIA.		Chimie organique structurale.
LENDER.		Biologie animale (S. P. C. N.) (Orsay).
MAGAT.		Physico-chimie des rayonnements.
M ^{lle} QUINTIN.	T	Électrochimie.
MONOD.	T	Biochimie cellulaire.

MM.

BENOIT.	T	Physiologie animale (Orsay).
DE POSSEL.	T	Analyse numérique.
CHARLOT.	T	Chimie analytique.
HAISSINSKY.	T	Radiochimie.
LEMÉE.	T	Physiologie (B. M. P. V.) (Orsay).
GUÉRIN.	T	Chimie (Orsay).
CHATELET (M.).		Chimie (P. C. B.).
JEAN.		Physique (Orsay).
MATTLER.	T	Physique (Orsay).
MICHEL (Louis).		Physique théorique (Orsay).
RUMPF.		Chimie (P. C. B.).
BERGERARD.		Biologie animale (S. P. C. N.) (Orsay).
BERTIN.		Électronique (Orsay).
BOUSSIÈRES.		Chimie des radioéléments (Orsay).
M ^{me} COUTURE.		Thermodynamique et Mécanique physique.
ELLENBERGER.		Géologie appliquée.
FRANC.		Biologie animale (P. C. B.).
SCHNELL.		Botanique tropicale (Orsay).
STOLKOWSKI.		Biologie animale (P. C. B.).
ACHER.		Chimie biologique (Orsay).
BAUDOIN.		Biologie.
BEAUMONT.		Biologie animale.
BLAMONT.		Géophysique ionosphère.
BOURREAU.		Biologie végétale (S. P. C. N.) (Orsay).
CURIE (D.).		Physique (M. G. P.).
DURAND-DELGA.		Géologie.
FRÉON.		Chimie organique (Orsay).
HELLER.		Physiologie végétale.
TORTRAT.		Calcul des probabilités.
CAILLEUX.		Géologie (S. P. C. N.).
MAGNAN.	T	Physique (P. C. B.).
DAUDEL.		Mécanique ondulatoire appliquée à la Chimie théorique et à la Physique nucléaire.
M ^{lle} FOURCROY.		Biologie végétale (S. P. C. N.).
BARRAUD.		Physiologie cellulaire.
NOIROT.		Évolution des êtres organisés.
M ^{me} FOURES-BRUHAT.	T	Mécanique analytique et mécanique céleste.
M ^{lle} VEIL.		Physiologie générale.
LWOFF.	T	Microbiologie.
SIESTRUNCK.	T	Mécanique physique et expérimentale.
LACOMBE.	T	Métallurgie (Orsay).
BROCHARD.	T	Physique (P. C. B.) (Orsay).
CABANNES.	T	Mécanique générale.
LESIEUR.	T	Mathématiques (M. P. C.) (Orsay).
MAZET.	T	Mécanique générale (Orsay).

Secrétaire général R. POUILLAIN.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES TUBES DE MALPIGHI ET DE L'EXCRÉTION CHEZ LES INSECTES

OBSERVATIONS AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

Par A. BERKALOFF

SOMMAIRE

INTRODUCTION ET HISTORIQUE	871
Découverte et mise en évidence du rôle excréteur des tubes de Malpighi	871
Principales données sur l'anatomie des tubes de Malpighi	871
Principales données sur l'histologie et la physiologie	871
a. Les produits d'excrétion (871). — b. Les mécanismes de formation des produits d'excrétion azotés (872). — c. Les cellules excrétrices et leur fonctionnement (873).	
CHAPITRE I. — MATÉRIEL ET TECHNIQUE	877
A. — Techniques d'observation vitale	877
B. — Techniques de fixation	878
C. — Techniques d'inclusion et de coupe	878
D. — Techniques d'observation	879
E. — Techniques d'expérimentation physiologique	879
CHAPITRE II. — STRUCTURE DES TUBES DE MALPIGHI DU GRILLON DOMESTIQUE.	881
I. — <i>Les grandes divisions de l'appareil excréteur du Grillon</i>	881
II. — <i>Le segment moyen des tubes de Malpighi</i>	882
A. — Les cellules excrétrices	882
a. <i>La basale</i> (883). — b. <i>La membrane cellulaire</i> (883). — 1. Les membranes latérales. — 2. La membrane externe et les cytomembranes. — 3. La bordure interne. — c. <i>Les formations membranaires accessoires</i> (889). — d. <i>Les inclusions cellulaires</i> (891). — 1. Les sphérocristaux ou urosphérites. — 2. Les globules. — e. <i>Les mitochondries</i> (895). — f. <i>Les noyaux</i> (896).	
B. — Les mucocytes	897
III. — <i>Le segment proximal et le collecteur commun des tubes de Malpighi</i>	898
IV. — <i>Le segment distal du tube et les tubes embryonnaires</i>	899
V. — <i>Les cellules des tubes de Malpighi des Orthoptéroïdes</i>	902
CHAPITRE III. — MODIFICATIONS EXPÉRIMENTALES DES ULTRASTRUCTURES CELLULAIRES	906
I. — <i>Influence du jeûne</i>	906
II. — <i>Excrétion de l'eau, effets morphologiques d'un milieu intérieur hypotonique</i>	907
ANNALES DES SC. NAT., ZOOL., 12 ^e série, 1960.	II,

III. — <i>Influence des solutions hypertoniques</i>	909
IV. — <i>Effets morphologiques des injections de protéines</i>	910
A. — Formation des globules	910
B. — Formation des urosphériles	915
CHAPITRE IV. — LES ULTRASTRUCTURES AU COURS DE L'EXCRÉTION	919
I. — <i>Les cytomembranes</i>	919
a. Les cytomembranes dans les cellules chargées (919). — b. Les cytomembranes dans les cellules épurées (919). — c. Les cytomembranes dans les cellules à gradient de charge (920).	
II. — <i>Les membranes flexueuses et les structures hydrophiles</i>	921
III. — <i>La bordure interne</i>	921
CHAPITRE V. — LE CYCLE DE FONCTIONNEMENT CELLULAIRE	924
CHAPITRE VI. — LES TUBES DE MALPIGHI DE LA LARVE D'ÆSCHNE	925
CONCLUSIONS	928

INTRODUCTION ET HISTORIQUE

Découverte et mise en évidence du rôle excréteur.

MALPIGHI, en 1669, décrivit pour la première fois, chez le Ver à soie, des tubes débouchant dans la partie postérieure du tube digestif, qu'il nomma *vasa varicosa*. C'est MECKEL qui, en 1826, leur donna leur nom actuel de tubes de Malpighi.

Leur rôle excréteur, soupçonné par HEROLD (1815), fut prouvé la même année par BRUGNATELLI, qui mit en évidence de l'acide urique dans leur contenu. Par la suite, de nombreux auteurs (PLATEAU, 1874 ; SCHINDLER 1878) ont confirmé ces résultats, qui, depuis le début du siècle, sont unanimement admis.

Principales données sur l'anatomie des tubes de Malpighi.

De toutes les études entreprises sur le sujet, il ressort que le nombre des tubes de Malpighi est très variable chez les Insectes. Chez les Orthoptéroïdes, ils sont toujours nombreux chez les imagos et leur nombre augmente de l'éclosion à la mue imaginale (MARTOJA, 1959).

On en trouve de huit chez les *Forficulidæ* à cent cinquante chez les *Gryllidæ*. Ils peuvent être libres ou groupés en faisceaux, au nombre de un à six suivant les familles (VENEZIANI, 1904 ; BORDAS, 1894-1897). Chez les *Gryllidæ*, on ne trouve qu'un seul faisceau : les tubes sont insérés sur un collecteur commun (BORDAS, 1902).

Chez tous les Orthoptères, les différents collecteurs débouchent à la limite entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur. Chez le Grillon, le collecteur unique et l'urètre, qui lui fait suite, pénètrent dans les couches musculaires de l'intestin moyen et se dirigent obliquement vers la lumière de l'intestin que l'urètre atteint à un niveau situé à peu près à la jonction entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur (BORDAS, 1901-1902).

Principales données sur l'histologie et la physiologie des tubes de Malpighi.

1° Les produits d'excrétion. — Les premiers mis en évidence ont été les produits insolubles comme l'acide urique, découvert en 1815, par BRUGNATELLI. Leur étude a très souvent été faite en se basant uniquement sur la forme des cristaux trouvés dans la lumière du tube et dans

les cellules (SIRODOT, 1858; SCHINDLER, 1878; VENEZIANI, 1904), méthode qui a entraîné de nombreuses erreurs.

Ces travaux ont été repris avec des techniques plus précises. Ils sont d'une exécution difficile, parce que les quantités d'urine prélevable sont toujours très faibles (RAMSAY, 1952). Ils ont montré que l'urine contient trois produits d'excrétion azotée principaux : l'ammoniaque, l'urée, l'acide urique (DELAUNAY, 1921 ; BROWN, 1937 ; MALŒUF, 1938 ; TIMON-DAVID, 1945 ; STADDON, 1955-1959). On trouve de l'ammoniaque chez beaucoup d'Insectes aquatiques ou vivant dans les lieux humides, telle les larves de Libellules (BROWN, 1938 ; STADDON, 1959) ou les larves de certains Diptères (BROWN, 1936-1938 ; WEINLAND, 1906). L'urée, moins répandue, constitue cependant une faible partie des excréta de la plupart des Insectes. L'acide urique, au contraire, est extrêmement répandu chez ceux-ci (MARCHAL, 1890), il représente souvent 90 p. 100 de l'azote excrété. C'est le cas des Orthoptères étudiés, notamment de *Melanoplus* (BROWN, 1937).

Mais il existe aussi, à côté des produits d'excrétion azotée, de nombreux sels de sodium, potassium, calcium et magnésium à l'état dissous ou à l'état de cristaux de carbonate, oxalate, sulfate ou phosphate. Les ions sodium, potassium et calcium, ont été dosés dans l'urine d'un certain nombre d'Insectes par RAMSAY (1952, 1953 *a*, 1953 *b*, 1954, 1956). Les sels insolubles existent parfois en grande quantité, notamment chez les Phasmes (DE SINÉTY, 1900) et chez les larves de Diptères (WATERHOUSE, 1950). Parfois même une partie du tube de Malpighi se différencie et accumule exclusivement du carbonate de calcium avec d'autres sels à l'exclusion d'acide urique ; c'est le cas de nombreux Diptères (EASTHAM, 1925) et de certaines femelles de Phasmides (DE SINÉTY, 1900-1901).

2° Les mécanismes de formation des produits d'excrétion azotée. —

Ceux-ci ont été relativement peu étudiés. Beaucoup de travaux concernant le métabolisme azoté des Insectes portent sur des sujets broyés ou sur l'ensemble du corps gras et des tubes de Malpighi, parfois sur les tubes de Malpighi seuls.

On a ainsi pu mettre en évidence le rôle de certains acides aminés et de leurs dérivés, comme la glutamine, dans le transport de l'ammoniaque dans le sang et leur rôle de toxifiant.

On a, d'autre part, découvert un certain nombre d'aminophérasés permettant le transfert des radicaux NH_2 d'un acide aminé à un autre, ainsi que des désaminases (BROWN et FARBER, 1936; BHEEMESWAR, 1959).

Certains auteurs ont essayé de montrer un cycle de l'urée analogue à celui décrit chez les Vertébrés ; mais, si les travaux de GARCIA et coll. (1956 et 1958) ont été positifs et tendaient à prouver qu'un tel cycle existait, tout au moins chez les Orthoptères, il ne semble pas en être de même chez la *Drosophile* (HINTON, 1956) et ce problème n'est toujours pas résolu.

L'acide urique paraît être synthétisé suivant les mêmes mécanismes

que chez les Vertébrés quand il provient de bases puriques, mais, dans le cas le plus général, où il a pour origine des protéines banales, il pourrait se former par fixation d'urée ou d'ammoniaque sur un acide dicarboxylique (LEIFERT, 1935). Mais ces études ayant été effectuées sur un seul Insecte : *Antheræa Pernyi*, il faudrait vérifier ces résultats chez d'autres. Dans la puppe de *Lucilia*, BROWN (1938 a, 1938 b) indique seulement une synthèse d'acide urique à partir d'ammoniaque.

3^o Les cellules excrétrices et leur fonctionnement. — a. ÉTUDES PHYSIOLOGIQUES ET HISTOPHYSIOLOGIQUES. — De nombreux auteurs ont tenté de tracer un schéma du fonctionnement du tube de Malpighi. SIRODOT, dès 1858, faisait remarquer que les différents sels de l'acide urique étaient inégalement solubles et indiquait clairement que la précipitation de l'acide urique devait être due à un changement dans la nature de ces sels. Mais c'est WIGGLESWORTH (1931) qui traça, chez un Insecte, l'Hémiptère *Rhodnius prolixus*, le premier schéma réellement acceptable de l'excrétion, devenu à présent classique : l'acide urique est éliminé dans la lumière sous la forme d'urates solubles par la portion terminale des tubes tandis que la portion proximale de ceux-ci, réabsorbant les bases, provoque la précipitation de l'acide urique très peu soluble dans l'eau.

Mais WIGGLESWORTH lui-même (1953) reconnaît que ce schéma n'est pas valable sous la même forme pour tous les Insectes. Chez les Orthoptères notamment, on ne trouve pas la division des tubes en deux sections et les urosphérites se forment dès les premières cellules fonctionnelles du tube. De plus, chez ces Insectes, les granules intracellulaires sont très semblables à ceux contenus dans la lumière de l'organe.

L'intestin postérieur a d'ailleurs été associé aux tubes de Malpighi dans les mécanismes d'excrétion et WIGGLESWORTH (1933) fut le premier à émettre l'hypothèse que les glandes rectales réabsorbent l'eau et déshydratent les excréta, ce qu'ont confirmé de nombreux auteurs, notamment PATTON et CRAIG (1939), BONÉ et KOCH (1942).

L'excrétion a été étudiée d'une part en injectant des colorants, d'autre part, en utilisant les traceurs radio actifs. Les colorants les plus utilisés ont été le carmin d'indigo et le rouge neutre. C'est ainsi que WIGGLESWORTH (1931) a montré que le rouge neutre était éliminé dans la lumière par le segment terminal des tubes de Malpighi de *Rhodnius* et réabsorbé par le segment proximal. LISON (1938) a montré que l'élimination comme la réabsorption de divers colorants révélaient l'existence de gradients physiologiques dans les tubes apparemment homogènes des Orthoptères. La fluorescéine a été utilisée par Gersh (1942).

Les éléments radioactifs ont été employés par LINDSAY et CRAIG (1942), et WATERHOUSE (1950). Ces auteurs ont employé le phosphore radioactif et montré que son élimination était très rapide.

Ces études ont permis de dresser un schéma analogue à celui des Vertébrés comportant trois processus : diffusion, sécrétion et réabsorption. La diffusion correspond à la filtration glomérulaire du rein des Vertébrés

et permet de comparer les tubes de Malpighi aux reins aglomérulaires de certains Poissons (RAMSAY, 1958).

Dans les tubes de Malpighi de divers Insectes, *Rhodnius*, par exemple, il existe plusieurs parties morphologiquement distinctes. WIGGLESWORTH (1931) a montré que, chez *Rhodnius*, la division histologique correspondait à une division physiologique. Mais, chez d'autres Hémiptères (SMITH, communication personnelle), ces divisions morphologiques sont plus nombreuses et plusieurs ont la même structure histologique. La corrélation histophysiologique devient, dans ce cas, beaucoup plus difficile à établir.

Enfin, chez les Insectes qui, comme les Orthoptères, possèdent une seule catégorie de cellules excrétrices, on est amené à considérer que les trois processus de diffusion, de sécrétion et probablement de réabsorption ont lieu dans la même cellule.

b. ÉTUDES HISTOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES. — Celles-ci sont relativement peu nombreuses (FEYEL, 1935) en dehors des travaux anciens de KÖLLIKER (1858), CUÉNOT (1895), EHRENBERG (1914), SAINT-HILAIRE (1927) et BUGAJEW (1928). Deux études récentes ont porté sur les cellules des tubes de Malpighi des Orthoptères, ce sont celles de CHAUVIN (1941) et de MARTOJA (1959).

Ces cellules possèdent une série de différenciations communes auxquelles viennent s'ajouter des formations particulières à chaque espèce. Ces différenciations communes consistent essentiellement en une striation périphérique et en une bordure en brosse. Ces deux formations se retrouvent d'ailleurs non seulement dans les tubes de Malpighi des Insectes mais aussi dans tous les organes excréteurs.

La striation périphérique radiale a été décrite, notamment par BORDAS chez le Grillon (1902) et chez les Lépidoptères (1911), sous le nom de striation basale. La bordure en brosse a été interprétée tantôt comme formée de cils immobiles (LÉCAILLON, 1899 ; DAVIS, 1927), tantôt comme formée d'expansions cytoplasmiques rigides de formes variables (WIGGLESWORTH, 1931).

Le cytoplasme est, en général, encombré d'enclaves variées. Ce sont ces enclaves qui présentent les plus grandes variations d'une espèce à une autre. Elles sont de nature et de forme très diverses (BUGAJEW, 1928). Les unes correspondent à des cristaux, souvent d'ailleurs à des sphéro-cristaux (WATERHOUSE, 1950), les autres à des globules colorés et incolores (VENEZIANI, 1904 ; CHAUVIN, 1941).

Les études au microscope électronique sont encore rares et fragmentaires. La première, celle de BEAMS, TAHMISIAN et DEVINE (1955) était particulièrement intéressante, car, succédant à l'étude de RHODIN (1954) sur la cellule des tubes contournés proximaux du rein des Vertébrés, elle montrait que le parallélisme de structure entre ces deux types de cellules excrétrices se poursuivait jusque dans l'ultra-structure de ces deux formations principales que sont les cytomembranes qui correspondent à la striation

basale, et la bordure en brosse interne. Une étude analogue a été faite par MEYER (1957).

Les inclusions n'ont pratiquement pas été étudiées avec ces nouveaux moyens et, à plus forte raison, comparées à celles du rein ou des autres organes excréteurs. Seul, MEYER (1957) mentionne l'existence de concrétions dans divers tubes de Malpighi, tandis que Day et coll. (1958) montrent la formation d'inclusions cellulaires bizarres, les *brochosomes*, chez un Homoptère (1).

Or, la microscopie électronique devrait avoir la plus grande utilité pour étudier ces cellules où le nombre, la diversité et la faible taille de la plupart des inclusions sont un écueil pour la microscopie optique.

Il est notamment important de vérifier dans quelle mesure l'analogie constatée par les divers auteurs entre certaines structures cellulaires des tubes contournés du rein et des tubes de Malpighi est bien réelle au niveau des ultrastructures.

En effet, ces cellules ne sont pas équivalentes du point de vue physiologique, car le principal transit d'eau se fait dans les tubes de Malpighi du milieu intérieur vers la lumière et non de la lumière vers le milieu intérieur comme on l'admet dans le cas du rein. Il est donc surprenant de trouver des cellules fonctionnant en sens inverse, tout au moins en partie, dont la polarité morphologique et les ultrastructures sont les mêmes.

En entreprenant cette étude, nous nous sommes proposé d'étudier en détail, dans la mesure du possible, les cellules des tubes de Malpighi et de les comparer à celles mieux connues des tubes contournés du rein des Vertébrés. Le fonctionnement des tubes de Malpighi du Grillon comme celui des autres Orthoptères est encore pratiquement inconnu et il était permis de penser que l'étude de leur ultrastructure cellulaire éclaircirait un certain nombre de points relatifs à leur physiologie.

Une observation comparée des tubes de Malpighi de l'animal normal et placé dans des conditions expérimentales variées a par ailleurs été entreprise.

De façon à vérifier si les conclusions tirées de l'examen des tubes de Malpighi du Grillon pouvaient être étendues aux autres Orthoptères, nous en avons observé un certain nombre d'espèces.

Enfin, nous avons essayé d'établir si, parmi les quelques Insectes où des analyses chimiques précises des excréta ont été effectuées, la morphologie cellulaire était liée à la nature chimique et au mode d'élimination des produits d'excrétion.

(1) Une revue bibliographique très récente et très complète sur l'excrétion chez les Insectes vient de paraître dans *Annual Review of Entomology*, 1960 (Craig).

CHAPITRE PREMIER

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Nous avons surtout étudié le Grillon (*Gryllus domesticus*), car celui-ci présente de nombreux avantages. Nous pouvons l'élever et, de ce fait, en disposer toute l'année. Omnivore, il se prête bien à l'étude de l'influence du régime sur l'excrétion. Enfin sa très grande résistance aux infections bactériennes permet de nombreuses opérations (injection de substances, ablation d'organes...) sans précautions spéciales.

L'existence d'un conduit évacuateur commun facilite d'autre part les manipulations en évitant de saisir directement les tubes qui sont très sensibles aux lésions mécaniques.

Le système de trachées alimentant chaque tube étant branché sur un conduit principal accolé au collecteur, on peut ainsi maintenir un système trachéen assez complet autour de l'appareil excréteur, ce qui semble important pour la stabilité des structures cellulaires en survie (GRANDIS, 1890).

1° Techniques d'observations vitales.

Nous avons fait un usage continu de telles méthodes et nous avons été amenés à utiliser différents milieux d'observation.

1° Milieux d'observation. — Nous avons utilisé, comme il est logique, le sang de l'insecte. Mais il est nécessaire, dans ce cas, de prendre certaines précautions :

— Ce sang coagule et ce phénomène est difficilement évitable puisqu'on ne connaît pas de corps chimiques s'opposant à cette coagulation. Le seul moyen connu consiste à chauffer à 60° C pendant dix minutes (CHAUVIN, 1956), mais ceci est impraticable dans nos expériences. La seule solution est de laisser le sang coaguler, ce qui demande moins d'une minute à 30° C, et d'utiliser ensuite le plasma restant.

— Il faut, de plus, travailler en anaérobiose partielle, car le pH du plasma augmente rapidement à l'air.

Ces précautions respectées, on a là le meilleur milieu de survie pour les tubes de Malpighi. Mais c'est souvent un mauvais milieu d'observation, car il contient fréquemment trop d'hémocytes qui gênent l'observation et surtout la photographie.

D'autre part, les mâles ne contiennent pas assez d'hémolymphes pour remplir une chambre humide.

Un autre milieu naturel qui nous a donné satisfaction est le plasma d'*Ascaride*. Des survies de très longue durée ont ainsi pu être obtenues, et la fixation permet de vérifier que les ultrastructures sont remarquablement bien conservées, tout au moins durant les premières heures.

Dans tous les autres cas (observations de courte durée, photographie), nous avons utilisé les milieux physiologiques artificiels additionnés d'un peu de sang de Grillon.

Le Ringer à 7,5 p. 100 nous a donné des résultats équivalents à ceux de liquides plus compliqués comme le liquide de Yeager (1939). Mais, les résultats varient d'un échantillon à un autre.

2° Conditions d'observation. — Les observations étaient effectuées entre lame et lamelle après lutage au Rhodorsil 519 en emprisonnant ou non des bulles d'air suivant que l'aérobiose était ou non préférable.

L'éclairage était très modéré, sauf durant les courts instants où l'on photographiait.

2° Techniques de fixation.

1° Fixation pour la microscopie optique. — Quel que soit le fixateur, la fixation à froid semble préférable.

Nous avons beaucoup utilisé l'*acétone* à — 10° C, qui nous a donné de bons résultats dans la plupart des cas. Nous avons aussi utilisé les liquides de Bouin, Zenker, Helly et le formol-calcium de Baker.

2° Fixations pour la microscopie électronique. — De façon à limiter les critiques que l'on peut faire à cette technique, nous avons utilisé la plupart des fixateurs connus jusqu'à présent dans ce domaine.

Le plus important est évidemment l'*acide osmique* sous diverses formes :

— *Liquide de Palade* (1952) ; dans le cas des tissus d'insectes, une forte concentration d'acide osmique est préférable ; aussi avons-nous adopté une concentration finale de 2 p. 100 en acide osmique. Le pH de fixation est apparemment peu important dans mesure où il ne s'écarte pas trop du pH optimum de 7,4.

— *Liquide de Dalton* (1955) : l'addition de bichromate n'apporte pas d'amélioration de la fixation dans le cas des tubes de Malpighi et, de plus, en rendant le fond du cytoplasme plus opaque, atténue le contraste.

Un fixateur classique en microscopie optique et parfois utilisé en microscopie électronique est le *formol*. Nous l'avons utilisé sous deux formes :

— Formol à 10 p. 100 tamponné au véronal : la fixation est assez bonne, mais soumise aux mêmes inconvénients qu'en microscopie optique, car elle souffre de la déshydratation. De plus, il est nécessaire, après une telle fixation, de travailler sous un faisceau de très faible intensité, car les structures sont peu stables et les électrons les disloquent très rapidement.

Il est donc utile de stabiliser les structures après une fixation au formol :

— Formol et postfixation : le moyen le plus simple est de postfixer quelques minutes, de deux à cinq minutes, dans du liquide de Palade, en gardant des tubes non stabilisés pour le contrôle. C'est cette méthode qui a été utilisée dans la recherche de certains enzymes au niveau des ultrastructures (NOVIKOFF, 1959).

— Nous avons utilisé un fixateur très classique en microscopie électronique, mais non employé, à notre connaissance, en microscopie optique comme fixateur histologique : le *permanganate de potassium*.

Nous l'avons utilisé selon la technique de LUFT (1956), c'est-à-dire à 0,6 p. 100, tamponné au véronal, ou selon la technique de Moellenhauer (1960), c'est-à-dire à 5 p. 100 non tamponné. Dans les deux cas, il faut opérer aux alentours de 0° C.

Les résultats sont équivalents dans les deux méthodes. Des temps de fixation de cinq à dix minutes suffisent largement.

3° Techniques d'inclusion et de coupe.

Nous avons utilisé exclusivement les matières plastiques nécessitant une déshydratation préalable des pièces, il faudra ultérieurement compléter notre étude en utilisant

les substances miscibles à l'eau (STAUBLI, 1960), qui ne sont pas tout à fait au point.

Les méthacrylates de butyl et de méthyl ont un gros avantage : la très grande fluidité du monomère qui permet une bonne pénétration dans tous les organes. Mais les résultats sont très inconstants, ce qui est fâcheux lorsque l'on procède à la comparaison d'une expérience et de plusieurs témoins.

L'araldite, selon GLAUERT et GLAUERT (1958), donne au contraire des résultats d'une constance remarquable et des inclusions homogènes dans une série de blocs. Par contre, la viscosité des monomères actuellement disponibles sur le marché est très grande et la pénétration dans les pièces pose parfois des problèmes.

Les méthodes d'inclusion dites « longues » s'étalant sur une semaine (BARNES et DAVIES, 1959) ne nous ont pas donné de résultats bien meilleurs que les inclusions normales.

Nous n'avons que peu utilisé le vestopal qui a donné de si beaux résultats à l'école de KELLENBERGER (RYTER et KELLENBERGER, 1958). En effet, les inconvénients sont sensiblement les mêmes que pour l'araldite sans qu'il y ait, à notre avis, d'avantages incontestables.

L'araldite comme le vestopal présentent, d'autre part, l'inconvénient de montrer souvent un grain de fond très important qui réduit le contraste et la définition.

D'une façon générale, le contraste est moindre dans le cas de ces deux dernières substances que dans le cas des méthacrylates.

Les coupes ont été effectuées à l'aide d'un microtome Servall du type Porter-Blum et de rasoirs de verre. Les coupes étaient recueillies sur eau distillée et étalées à l'aide de vapeurs de benzène. Des coupes épaisses étaient recueillies sur lames de verre et montées dans de l'araldite fraîche pour les contrôles optiques.

4° Techniques d'observation.

1° Microscopie optique. — Dans quelques cas, nous avons utilisé le dispositif Nomarsky sur microscope Nachet, le contraste de phase classique étant peu utile dans le cas des tubes vivants vu l'épaisseur de ces tubes et le nombre des inclusions.

Les photographies ont été prises sur Zeiss Ultraphot II sur des plaques S.S.E. Lumière révélées à l'aide du révélateur Lumière correspondant.

2° Microscopie électronique. — Nous avons utilisé indifféremment plusieurs types de microscopes électroniques ; le microscope Philips EM 100, les microscopes RCA EMU 3 A, EMU 3 B, EMU 3 C, EMU 3 CF et EMU 3 D, ainsi que le microscope OPL.

Le faible contraste de nos préparations nous a conduit à supprimer le film de carbone support que nous utilisions au début de nos recherches et à monter directement les coupes sur les grilles.

On ne doit employer, dans ce cas, qu'un faisceau de faible intensité au début, puis lentement croissante.

5° Techniques d'expérimentation physiologique.

Nous avons essayé d'avoir dans tous les cas des animaux comparables.

En particulier, et sauf exception, nous n'avons utilisé que des Grillons adultes des deux sexes. Mais, ne pouvant bloquer l'excrétion, nous avons déjà, au départ, des animaux où l'activité des tubes est inégalement importante. Il nous fallait alors procéder de façon statistique et observer de nombreux animaux. Pour chaque expérience, nous avons utilisé au minimum six individus de chaque catégorie et renouvelé, en moyenne, trois fois la même expérience.

Nous n'avons pas étudié l'effet de groupe sur l'excrétion, mais, comme CHAUVIN

(1958) a montré qu'il retentissait sur le métabolisme général de l'Insecte, nous n'avons jamais, sauf exceptions, traité d'animaux isolés.

La plupart des expériences consistaient en des injections de substances diverses en solution ou en suspension. Pour que les variations de pression interne n'interfèrent que le moins possible avec les phénomènes étudiés, nous ne faisons que remplacer une partie de l'hémolymphé prélevée au niveau des cerques par la solution expérimentale. De cette façon, la pression interne restait à peu près constante.

Les quantités de liquide injectées sont toujours difficiles à évaluer du fait du rejet d'une partie de celui-ci et les chiffres donnés sont approximatifs.

CHAPITRE II

STRUCTURE DES TUBES DE MALPIGHI DU GRILLON DOMESTIQUE

Les tubes de Malpighi des Insectes présentent les mêmes différenciations que les autres organes excréteurs connus ; mais, en plus, ils possèdent des caractères particuliers liés à la physiologie spéciale de l'excrétion chez ces animaux.

Chez le Grillon, ils sont groupés en un faisceau de cent à cent cinquante tubes environ, débouchant sur un collecteur et suivi d'un canal évacuateur commun (BORDAS, 1902).

Ces tubes sont, chez le Grillon, tous équivalents contrairement à ce qu'en écrit KÖLLIKER (1858). [BORDAS (1894) avait déjà remarqué que la distinction entre tubes blancs et tubes jaunes chez le Grillon lui paraissait sans fondement.] Nous y trouvons des cellules fortement polarisées avec un pôle apical caractérisé par une bordure interne différenciée et un pôle basal possédant un système de membranes complexe. Mais ces caractéristiques varient suivant le niveau où on observe l'appareil excréteur. En effet, ce dernier, comme celui de beaucoup d'Insectes et notamment d'Orthoptères, comprend plusieurs segments.

1° Les grandes divisions de l'appareil excréteur du Grillon.

Les travaux de BORDAS (1898, 1901, 1902) ont en effet montré que l'on pouvait distinguer un certain nombre de segments dans cet appareil.

Les tubes de Malpighi proprement dits en comportent trois. Un segment distal, long d'environ 0,6 à 0,7 mm, possède des cellules incolores et dépourvues de sphérocristaux. Il représente, comme nous le verrons, une zone ayant conservé bien des caractères embryonnaires et restée partiellement indifférenciée. Le segment moyen, qui est, de loin, le plus développé, correspond au segment décrit par BEAMS, TAHMISIAN et DEVINE (1955). Il se reconnaît aisément aux très nombreuses granulations qui chargent les cellules tandis que, de place en place, des amas de sphérocristaux encombre la lumière. Le segment proximal, très court, constitue une zone de transition avec le collecteur. Il est, comme ce dernier, dépourvu de sphérocristaux intracellulaires. Tous deux possèdent dans la bordure interne une phosphatase alcaline très active qui est absente dans tous les autres segments. L'urètre se rattache à l'intestin posté-

rieur par l'existence d'une cuticule chitineuse à la place de la bordure interne.

2° Le segment moyen des tubes de Malpighi.

Ce segment constitue, du point de vue morphologique, l'essentiel du tube de Malpighi : c'est dans ce segment que s'élaborent les concrétions qui constitueront les excréta. Il s'agit donc d'un segment particulièrement important.

À l'examen des tubes vivants comme des coupes de tubes fixés, deux catégories cellulaires s'observent : des cellules banales parmi lesquelles sont dispersés des mucocytes. Nous étudierons d'abord les cellules principales qui sont de loin les plus nombreuses et qui, apparemment, sont les seules excrétrices, puis nous nous intéresserons aux mucocytes.

A. — LES CELLULES PRINCIPALES.

Comme dans tous les organes excréteurs, se retrouve une morphologie cellulaire particulière caractérisée par une polarisation apico-basale extrêmement nette.

À côté des organites cellulaires classiques s'observent des formations propres aux cellules excrétrices et enfin quelques éléments particuliers aux tubes de Malpighi du Grillon.

Sous la basale, nous trouvons la membrane cellulaire compliquée par des replis multiples : les *cytomembranes*. Entre ces replis s'observent de très nombreuses mitochondries, de tailles très diverses, orientées radialement (fig. 5).

Les cellules sont binucléées et leurs noyaux sont situés dans la zone apicale, usuellement renflée, de la cellule.

Enfin, ces cellules sont limitées vers la lumière du tube par une bordure interne striée, qui est très voisine d'une bordure en brosse.

Toutes ces structures ont été étudiées dans les tubes de Malpighi d'un Orthoptère, *Melanoplus differentialis* par BEAMS et coll. (1955), mais, comme l'a fait remarquer MEYER (1957), cette description était incomplète. Ainsi nous avons pu mettre en évidence successivement chez le Grillon deux catégories de granulations intracellulaires dont la présence est constante chez les autres Orthoptères et chez beaucoup d'autres Insectes. Ce sont : 1° des sphérocristaux à zonation concentrique (BERKALOFF, 1958 a) se formant dans des vacuoles dites vacuoles à concrétion ; 2° des globules incolores ou pigmentés, que nous avons rapprochés de formations similaires existant dans tous les organes excréteurs (BERKALOFF, 1959 c).

De plus, nous avons constaté que, chez le Grillon, le système de cytomembranes périphériques était plus complexe que dans le rein des Ver-

tébrés; en effet on trouve, associées aux cytomembranes proprement dites, des membranes accessoires (BERKALOFF, 1958 b, 1959 c).

Enfin, des structures extrêmement polymorphes, que nous avons nommées structures hydrophiles et dont nous avons décrit les transformations en présence d'un milieu intérieur hypotonique, s'observent dans la région basale de la cellule (BERKALOFF, 1960).

Nous allons étudier successivement ces différents constituants cellulaires.

1° La basale. — Cette membrane, traversée par toutes les substances que la cellule prélève dans le milieu intérieur, a un rôle certain dans la perméabilité du tube.

Comme le notent POLICARD et COLLET (1959) dans le cas du rein des Vertébrés, cette basale n'est pas entièrement homogène. Elle est, d'autre part, soumise à des variations de structure.

Le long du tube moyen, elle apparaît comme formée d'une couche vaguement stratifiée parallèlement à la surface cellulaire et qui, au niveau des trachées et des deux bandes musculaires hélicoïdales décrites par LÉGER et DUBOSQ (1899) se résoud en plusieurs lames portant de fines ramifications (fig. 61).

Il existe toujours entre la basale et la cellule un espace clair correspondant à un milieu moins dense. C'est dans ce milieu que puise en réalité la cellule. Il n'est pas impossible qu'il soit différent du milieu intérieur (POLICARD et COLLET, 1959).

2° La membrane cellulaire. — La membrane cellulaire présente, dans les tubes de Malpighi, une complexité extrême et des différenciations remarquables en rapport avec l'extraordinaire sensibilité de la cellule aux variations du milieu intérieur.

Nous pouvons distinguer les membranes latérales intercellulaires, la

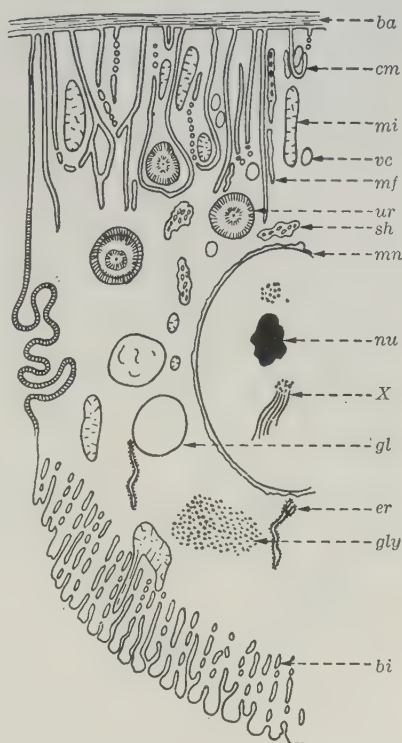


SCHÉMA N° 1. — Une cellule du segment moyen du tube de Malpighi du Grillon avec ses principaux constituants.

Sous la basale (ba), on trouve les cytomembranes (cm). Celles-ci enserrent membranes flexueuses (mf), mitochondries (mi) et vacuoles à concrétion (vc).

Dans le cytoplasme s'observent les inclusions caractéristique : les urosphérites (ur) et les globules (gl), ainsi que des mitochondries et des structures hydrophiles (sh).

Enveloppant le noyau, qui contient un nucléole (nu) et des structures énigmatiques (X), on observe la membrane nucléaire double (mn). (Les chromosomes n'ont pas été figurés.)

membrane externe compliquée par les cytomembranes et enfin la membrane bordant la lumière du tube.

a. LES MEMBRANES LATÉRALES DE LA CELLULE. — La cloison intercellulaire, formée par les membranes latérales des deux cellules adjacentes, est très finement structurée. En effet, comme le montre la figure 8, on observe entre les deux membranes de fines lamelles parallèles entre elles et perpendiculaires aux membranes cellulaires.

Cette structure, que nous estimons équivalente à celle décrite chez l'Hydre (WOOD, 1959), se retrouve toujours dans les quatre cinquièmes apicaux et se prolonge parfois jusqu'à la zone basale de la cellule. Toutefois, la figure 62 montre que cette structure peut parfois disparaître dans cette zone. Cette architecture caractéristique est inconnue dans les cellules tubulaires du rein et va de pair avec une grande stabilité de la morphologie de la cloison et une très faible sensibilité de celle-ci aux variations du milieu intérieur. L'aspect de cette cloison est souvent compliqué par l'existence de dispositifs d'ancrage intercellulaires qu'illustre la figure 7.

b. LA MEMBRANE EXTERNE ET LES CYTOMEMBRANES. — La membrane externe est caractérisée par un système de cytomembranes très complexe. Celui-ci a été décrit pour la première fois par SJÖSTRAND et RHODIN (1953) et par RHODIN (1954) dans le tube contourné proximal du rein et classé par ces auteurs comme β cytomembranes par analogie avec les α cytomembranes de l'ergastoplasme et les γ cytomembranes de l'appareil de Golgi (SJÖSTRAND, 1956). Une telle classification n'a plus de sens actuellement et nous garderons la dénomination de cytomembranes pour les premières nommées seulement.

Chez les Insectes, une telle différenciation, connue des auteurs classiques sous le nom de striation basale (BORDAS, 1902), a été interprétée de différentes façons, en particulier comme structure fibrillaire (WIGGLESWORTH, 1953). Elle a été réétudiée chez *Melanoplus*, comme nous l'avons vu, par BEAMS et ses coll. (1955) et mise en parallèle avec les structures connues dans les cellules tubulaires du rein des Vertébrés.

Ces cytomembranes ne peuvent être observées en coupe transversale que sur des coupes également transversales du tube de Malpighi. Elles sont donc orientées longitudinalement par rapport au tube. On peut le vérifier à l'aide d'imprégnations métalliques des membranes (imprégnation au nitrate de plomb). Elles se présentent comme une invagination de la membrane cellulaire externe qui s'enfonce plus ou moins profondément dans le cytoplasme. Cette invagination constitue ainsi une double membrane d'épaisseur relativement constante comme l'avait déjà noté BEAMS. Elle ne présente pas la structure striée observée dans la cloison intercellulaire.

De nombreux problèmes se posent à son propos. Il faudrait établir tout d'abord si cette structure est réellement intracellulaire ou si elle

n'est pas plutôt intercellulaire. Ensuite, on peut se demander si la disposition est constante à un niveau donné du tube ou si elle varie suivant les conditions physiologiques. De plus, il faut contrôler si les images obtenues correspondent à la réalité et si les variations constatées ne peuvent pas être attribuées, au moins en partie, à la fixation.

Établir que les cytomembranes sont réellement des organites intracellulaires plutôt qu'une membrane intercellulaire est un problème délicat. En effet RHODIN (1954) admettait, au début, qu'il s'agissait dans le cas du rein, de structures intracellulaires, mais, ultérieurement, (1956) il les interpréta comme des pénétrations cellulaires dans la région basale. De telles pénétrations semblent effectivement exister dans de nombreuses cellules comme celles des glandes salivaires (TANDLER, communication personnelle).

Mais, dans le cas des tubes de Malpighi des Orthoptères et du Grillon en particulier, cette interprétation ne convient pas entièrement. En effet, lorsque deux cellules contiguës sont dans un état différent, par exemple au contact entre une cellule banale et un mucocyte ou à la jonction entre le segment distal et le segment moyen, ou plus simplement au contact de deux cellules différemment chargées, on devrait observer, dans tous les cas, des compartiments clos dont le cytoplasme est analogue à celui des compartiments ouverts de la cellule voisine, suivant le schéma 2. Or un tel aspect ne s'observe que rarement. D'autre part, lors des phénomènes de potocytose, une cellule peut être expulsée dans la lumière; on constate alors qu'elle reste munie de cytomembranes. Au moins une partie de celles-ci sont donc intracellulaires. Une telle structure n'est pas exceptionnelle, car on la retrouve dans des cellules isolées du même animal : cellules péri-cardiales et certains phagocytes.

Ceci nous a conduit à admettre que les cytomembranes étaient dues à l'existence d'expansions cellulaires en forme de lames orientées longitudinalement. Au contact de deux cellules, des lames provenant de l'une d'elles peuvent s'imbriquer avec celles de l'autre, mais, dès que l'on s'écarte du contact, ces interpénétrations deviennent plus rares. Cette disposition expliquerait à la fois l'existence de telles interpénétrations et leur relative rareté. Un point nous semble important : le système absorbant périphérique constitué par les cytomembranes ne possède pas la structure fine des membranes latérales.

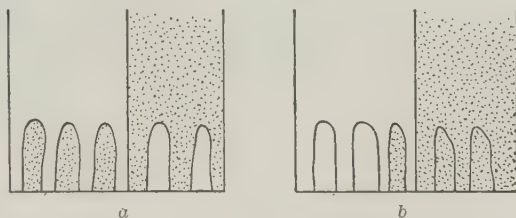


SCHÉMA n° 2. — Nature des compartiments périphériques.

Dans le cas *a* les compartiments périphériques sont vraisemblablement dus à l'existence de digitations provenant de la cellule voisine.

Dans le cas *b*, celui que nous estimons le plus probable dans le cas du Grillon, seuls quelques compartiments marginaux correspondent à des digitations issues de la cellule voisine, les autres proviennent de la cellule elle-même.

Les cytomembranes diffèrent donc, ne serait-ce que par leur orientation strictement longitudinale, de celles des tubes contournés du rein (RHODIN, 1959 *b*). Il est d'ailleurs probable que de telles structures résultent de convergences, car on les retrouve dans beaucoup de types cellulaires (PEASE, 1956 *a*, 1956 *b*), mais sous des formes, en définitive, très diverses dans le détail.

Dans le tube moyen fonctionnel, les cytomembranes ont un développe-

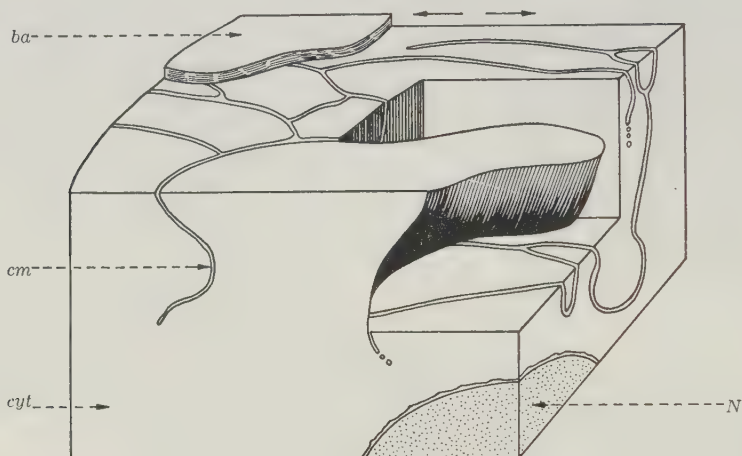


SCHÉMA n° 3. — Reconstitution très schématique de la structure des compartiments périphériques.

L'un des compartiments a été dégagé de façon à montrer sa forme générale.

(Les notations sont les mêmes que dans le schéma n° 1 ; les flèches indiquent le sens d'allongement du tube.)

ment très différent suivant les cellules observées. On sait que, dans le rein (PEASE, 1955 *b*), elles sont plus nombreuses et s'enfoncent plus profondément dans la cellule du tube contourné distal que dans celle du tube contourné proximal. Chez certains Insectes, on doit retrouver une zonation analogue (une étude des tubes de Malpighi de *Rhodnius* serait intéressante à ce sujet), mais, chez le Grillon, ce n'est pas le cas et on peut considérer ceci comme un caractère peu évolué.

Ayant pu observer un tube à de nombreux niveaux, nous avons constaté que l'ampleur et la forme des cytomembranes variaient suivant un schéma qui n'était pas constant d'un tube à l'autre du même Grillon.

L'ampleur du système n'est pas le seul point de variation des cytomembranes. En effet, on constate que, dans certaines cellules, les compartiments périphériques sont pour la plupart ouverts vers le centre de la cellule alors que, dans d'autres, ils sont fermés (nous verrons que cette disposition semble en relation avec la charge cellulaire). Par ailleurs, dans beaucoup de cellules, surtout dans les cellules à très nombreuses cytomembranes, on observe une perforation de celles-ci et leur égrènement en petites vésicules.

Cette vésiculation des membranes est un problème très controversé.

RHODIN en montre dans beaucoup de ses figures sans en discuter ; FAWCETT (communication personnelle) pense qu'il s'agit là d'un artefact de fixation. Nous touchons ici au problème de la conservation de ces structures par nos procédés de fixation.

Il faut tout d'abord remarquer que nous disposons, avec les tubes de Malpighi, d'un très grand avantage, celui de n'avoir interposé entre le fixateur et les cellules à fixer qu'une mince couche basale ; de plus la région de la cellule à étudier est précisément la première atteinte par ce fixateur.

Il reste à examiner l'influence du fixateur lui-même. Nous obtenons avec le formol, postfixé ou non, des images équivalentes à celles obtenues avec le liquide de Palade ; le permanganate donne des résultats à peu près identiques. L'acide osmique semble donc donner une image valable et comme ces perforations apparaissent toujours à des stades équivalents de charge cellulaire (elles sont en particulier absentes dans les tubes embryonnaires ou dans les cellules indifférenciées du tube distal), on peut en conclure que leur réalité dans la cellule est probable.

Le rôle de ces vésicules est obscur. Si SUZUKI (1958) pense qu'elles forment, par confluence, les cytomembranes, on peut aussi penser le contraire et, comme nous en observons une plus grande abondance au maximum de la charge cellulaire avant l'épuration (épuration suivie, comme nous le verrons, par une régression des cytomembranes), nous pensons que cette vésiculation est un stade de leur dislocation. Nous n'en avons cependant pas la preuve absolue.

En fait, le rôle des cytomembranes reste pratiquement inconnu. On peut penser avec PEASE (1956 *b*), MAXWELL et PEASE (1956) qu'elles procurent une surface externe considérable à la cellule. Nous verrons que cet accroissement de surface ne s'accompagne pas obligatoirement d'un transit d'eau.

D'autre part, comme nous l'avons noté, le sens de circulation des liquides à travers la cellule est inverse dans les tubes contournés du rein et dans les tubes de Malpighi. Or la structure du système de membranes périphériques est différente dans ces deux organes, étant compliquée, dans les tubes de Malpighi du Grillon, par l'existence de membranes flexueuses. Il est alors tentant d'associer ces deux différences. De nombreuses autres observations sont cependant nécessaires pour prouver cette corrélation.

LA BORDURE INTERNE DE LA CELLULE. — WIGGLESWORTH (1931) montra que cette bordure, observée sur les tubes de Malpighi vivants de *Rhodnius*, appartenait à deux types assez différents ; alors que, dans la région proximale du tube, c'est une bordure en brosse typique, dans la région distale il s'agit d'une bordure en nid d'abeille. Ce changement dans la nature de la bordure va de pair, dans ce cas, avec une modification du rôle des cellules qui, d'excrétrices dans la région distale, sont réabsorbantes dans la région proximale.

Mais, comme le fait remarquer cet auteur, dès que l'on fixe les tubes de Malpighi, il devient impossible de distinguer les deux types de bordures

au microscope optique. Il est donc évident que la fixation altère facilement la bordure interne dans ces cellules comme dans les cellules du rein (PEASE, 1955 *b*). Il s'agit, en effet, d'une structure cellulaire qui, du point de vue morphologique, est des plus sensible aux facteurs externes. WIGGLESWORTH note cependant que l'acide osmique lui paraît le meilleur fixateur dans ce cas, or c'est précisément celui-ci que nous utilisons.

L'observation sur le vivant paraît donc être fondamentale. Mais elle pose des problèmes ardues dans le cas de cellules chargées et même dans les cellules « vides » du fait de l'épaisseur des tubes qui empêche l'usage du microscope à contraste de phase classique. C'est dans ce cas que le dispositif interférentiel de Nomarsky nous a été particulièrement utile.

Déjà avec une optique classique, on peut se rendre compte sur le vivant (Pl. XXII) que cette bordure varie beaucoup, et ceci dans une même cellule. C'est ce que confirme l'étude sur matériel fixé. Mais, ici, le fixateur utilisé a une importance certaine. L'acide osmique tamponné selon PALADE donne comme le formol des résultats compatibles avec l'observation *in vivo*. Au contraire, le permanganate, tout en donnant des résultats constants, provoque des altérations sensibles de la morphologie de la bordure interne; on constate, en effet, une séparation complète des digitations qui prennent l'aspect observé dans les cellules soumises à un milieu hypotonique (Pl. XIII).

Nous avons, d'autre part, étudié les modifications de la bordure lors de lésions diverses (lésions mécaniques, *pH* trop alcalins) et nous avons constaté que ces facteurs entraînaient toujours la disparition avec gonflement et soudure des digitations selon un processus analogue à celui qui donne les cellules en dôme dans les tubes contournés proximaux du rein (PEASE, 1955 *b*).

Cette étude nous a permis de nous rendre compte des artefacts possibles et de nous faire une idée que nous pensons assez exacte de la morphologie de cette bordure interne.

L'aspect le plus courant (fig. 11) est celui de digitations plus ou moins épaisses et anastomosées. Les anastomoses sont peut-être accentuées par la fixation, mais existent sur le vivant. Ces digitations ne sont pas aussi régulières et aussi étroitement accolées que dans le segment distal (fig. 19) ou dans l'intestin moyen.

La bordure interne est limitée vers le cytoplasme par une zone finement fibreuse, osmiophile, qui est positive lorsqu'on lui applique la méthode de Barrnett et Seligman ou d'Adams pour la détection des radicaux sulfhydrylés, ce qui explique en partie son osmiophilie (BAHR, 1954). Cette zone existe, plus ou moins différenciée, sous la bordure interne de toutes les cellules du tube moyen, mais elle est particulièrement visible dans certaines cellules épurées. NOEL et TAHIR (1929) avaient soupçonné l'existence de cette zone et ses relations avec les digitations de la bordure en brosse. Après une fixation au permanganate, elle est transparente aux électrons.

Il s'agit probablement d'une formation analogue au *terminal web* décrit dans l'intestin, par PALAY et CARLIN (1959) et PUCHTLER et LEBLOND (1958).

Les digitations montrent, sur des coupes fines bien parallèles à leur axe, une structure interne qui, d'après une mise au point récente de RHODIN (1959), n'existe pas dans la bordure en brosse du tube contourné proximal du rein. En effet, on observe dans leur axe un canalicule qui prend racine dans le cytoplasme au-delà de la zone fibrillaire (une fixation au permanganate le montre parfaitement) et se termine par une ampoule à l'extrémité de la digitation. Nous verrons que cette structure devient particulièrement visible dans certaines conditions expérimentales. C'est dans ce canalicule que s'engagent mitochondries et autres inclusions cytoplasmiques.

L'association des mitochondries avec les digitations de la bordure interne avait déjà été notée par NOËL et TAHIR (1929) dans les tubes de Malpighi du Ver à soie et a été confirmée par BEAMS et coll. (1955) et MEYER (1957).

Cette association n'est pas spéciale aux organes excréteurs, car on la retrouve dans les glandes collatérales de la Blatte (MERCER et BRUNET, 1959). Il y a là quand même un phénomène important, car il est lié à un stade fonctionnel de la cellule. Cette association marque, en effet, une des phases de la différenciation cellulaire, elle cesse dans beaucoup de cellules de l'animal à jeun, elle n'existe pas dans le tube proximal et dans le collecteur.

3° Les formations membranaires accessoires :

les membranes flexueuses et les structures hydrophiles.

a. MEMBRANES FLEXUEUSES. — Nous avons vu que les cytomembranes des tubes de Malpighi et, d'une façon générale, la région basale de leurs cellules s'apparentent assez, jusqu'à présent, à celles des tubes contournés du rein. Mais nous avons noté dans une publication préliminaire (BERKALOFF, 1958 *a*) que ces cytomembranes étaient flanquées, dans les tubes de Malpighi, de membranes que nous avons nommées *membranes flexueuses* eu égard à leur aspect et pour ne pas préjuger de leur rôle ni de leur nature. Nous avons noté une certaine analogie avec les membranes ergastoplasmiques qui constituent la seconde enveloppe du noyau.

L'association membranes flexueuses-cytomembranes est extrêmement étroite dans les cellules en pleine activité, elle devient plus lâche dans les cellules sans urosphériles où les cytomembranes sont réduites.

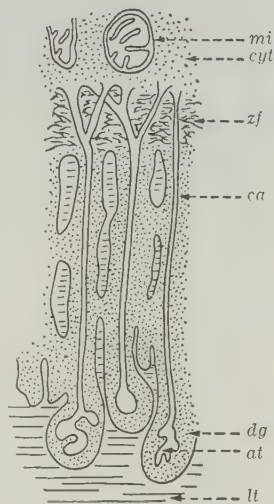


SCHÉMA n° 4. — La bordure interne.

Celle-ci est formée de digitations (*dg*) dans lesquelles court un canalicule axial (*ca*) qui prend racine dans le cytoplasme (*cyt*) au-delà de la zone fibrillaire (*zf*) et se termine par une ampoule (*at*).

Nous sommes donc conduits à associer les deux formations dans les phénomènes d'absorption cellulaire.

Ces membranes que montrent les figures 6 et 9 constituent, en fait, des vésicules aplaties appliquées de part et d'autre des cytomembranes, sur leur face intracellulaire, de telle sorte que la surface absorbante apparaît comme formée de six membranes parallèles. Nous avons donc affaire là à un système relativement complexe.

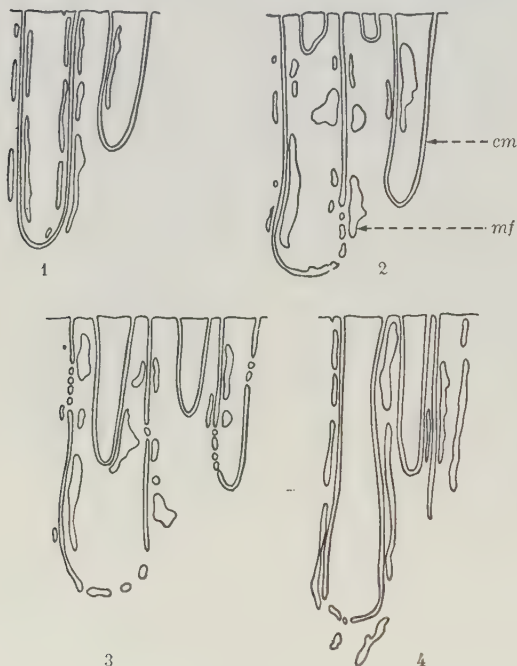


SCHÉMA n° 5. — Origine des membranes flexueuses.

Dans les cellules normales existent cytomembranes (*cm*) et membranes flexueuses (*mf*). Dans certains cas comme I et IV aucune relation évidente n'existe entre ces deux structures.

Néanmoins, l'existence de stades comme les stades II et III permet de penser que les membranes flexueuses ont pour origine les cytomembranes, la transformation s'effectuant suivant les stades correspondant aux stades I à IV.

Cette transformation correspond à un renouvellement des cytomembranes.

les membranes médianes présentent des perforations. Enfin aucune membrane flexueuse n'est visible. Or, celles-ci sont toujours présentes dans la cellule fonctionnelle.

Nous en concluons que les doubles membranes externes, situées de part et d'autre de la membrane médiane ne sont pas des cytomembranes, mais des membranes flexueuses qui ont acquis ou gardé l'aspect de cytomembranes. Cette dernière interprétation nous paraît la plus vraisem-

L'origine de ces membranes est éclairée par l'observation fréquente d'images comme celle de la figure 9. On constate ainsi souvent que les vésicules des membranes flexueuses sont dans le prolongement d'une cytomembrane perforée. D'autre part, à certains stades du fonctionnement cellulaire, ces perforations sont plus fréquentes; or, à ces stades, les membranes flexueuses sont extrêmement nombreuses et semblent remplacer par endroits les cytomembranes.

Enfin une observation que nous avons pu faire dans un animal ayant subi une injection de 0,1 cm³ d'une solution de phosphate disodique à 3 p. 100 dans du liquide de Ringer nous a montré (fig. 10) des cytomembranes particulières. Tout d'abord, elles semblent être associées par trois, formant des systèmes de six membranes parallèles et cette association est très étroite.

Ensuite on constate que seules

blable, dans la mesure où les membranes flexueuses sont plus fréquentes dans les cellules où les cytomembranes disparaissent.

L'espace situé à l'intérieur de ces membranes n'est jamais ouvert dans le cytoplasme, il est, en fait, extérieur à la cellule et homologable à une vacuole de pinocytose (LEWIS, 1931 ; MAMWARING, 1930 ; HOLTER et MARSHALL, 1954 ; HOLTER, 1959 ; POLICARD et BESSIS, 1959).

b. LES STRUCTURES HYDROPHILES. — Ces vésicules, ordinairement aplaties dans la cellule normale, forment des structures qui ont attiré notre attention par leur grande sensibilité à la pression osmotique du milieu intérieur (BERKALOFF, 1960). Comme nous le montrerons ultérieurement, elles se dilatent et donnent des vacuoles chez les animaux dont la pression osmotique a été artificiellement abaissée. Nous les avons appelées provisoirement des « structures hydrophiles ».

En fait, les structures hydrophiles sont souvent plus complexes que les simples vésicules formées par les membranes flexueuses, car elles contiennent dans leur cavité des tubules de dimensions variables qui n'existent jamais libres dans le cytoplasme. Ces tubules permettent de suivre l'évolution des vacuoles chez un animal dont on a abaissé la pression osmotique intérieure et d'établir la parenté entre ces vacuoles et les structures hydrophiles.

Cette relation entre les cytomembranes, les membranes flexueuses et les structures hydrophiles est particulièrement intéressante, car elle traduit l'existence de phénomènes de pinocytose à la périphérie cellulaire. Nous ne savons pas quelle est l'importance de ces phénomènes de pinocytose par rapport à la diffusion à travers les membranes dans le transit d'eau intra-cellulaire et s'ils interviennent dans les phénomènes de perméabilité sélective comme l'a supposé BENNETT (1956).

4° Les inclusions cellulaires. — L'examen d'un tube de Malpighi vivant du Grillon permet de se rendre compte que les cellules du segment moyen sont très souvent chargées de granulations nombreuses (fig. 1, 2 et 3). L'examen des mêmes cellules au microscope électronique montre que ces inclusions sont de deux sortes : d'une part des sphérocristaux, d'autre part des globules incolores ou pigmentés.

a. LES SPHÉROCRISTAUX OU UROSPHÉRITES. — Les sphérocristaux caractéristiques du tube moyen avaient été vus par BEAMS et coll. (1955) puisqu'on les voit sur la figure 1 de leur article, mais ils ne sont mentionnés ni dans le texte ni dans les légendes. MEYER (1957) les avait vus et sommairement décrits.

Ils présentent à l'examen au microscope électronique une zonation concentrique (Pl. XV).

DAY (1949), étudiant la répartition de la phosphatase alcaline en utilisant la méthode de Gomori, mit accessoirement en évidence dans les tubes de Malpighi d'Orthoptères une série de granules positifs qui le restaient dans les témoins sans glycérphosphate. Il en conclut qu'il s'agissait

uniquement de phosphate de calcium. Nous les avons retrouvés chez le Grillon (BERKALOFF, 1959) et nous avons repris sommairement l'analyse de ces grains, étant donné que les grains de la lumière du tube, comme nous le verrons, en dérivent directement et qu'il s'agit donc de précurseurs intracellulaires des excreta.

Nous avons mis en évidence dans ces grains, à l'aide de la réaction de la murexide modifiée, une purine, apparemment l'acide urique d'après ses caractères de solubilité (LISON, 1953). La réduction du nitrate d'argent à l'obscurité confirme ces résultats.

Mais ces réactions sont difficiles à obtenir et surtout à analyser, car la quantité d'acide urique n'est pas très importante et la taille des grains est faible. De plus l'acide urique n'est pas seul présent dans ces formations.

La réaction de la murexide classique, très brutale, dissout la plupart du temps l'acide urique qui est révélé suivant une auréole autour des tubes. Pour éviter cette dissolution, nous nous contentions de tamponner la lame préalablement chauffée avec du papier filtre sans cendres imbibé d'acide nitrique, puis nous séchions quelques secondes après à l'aide d'un courant d'air chaud. L'exposition aux vapeurs d'ammoniaque montre alors sur le fond jaune des cellules les grains pourpres d'acide urique. Un lobe du corps gras riche en acide urique, inclus dans le même bloc, servait de témoin.

Dans ces conditions nous avons obtenu plusieurs localisations intracellulaires correspondant bien à celles que l'on observe dans les coupes traitées au nitrate de cobalt, puis au sulfure d'ammonium. L'acide urique est donc situé dans les mêmes grains. Il est d'ailleurs très probable que les résultats positifs ont été obtenus dans des grains particulièrement riches en acide urique.

La réduction du nitrate d'argent est assez lente et nécessite souvent une incubation à l'étuve à 37°. Elle doit être pratiquée à l'obscurité étant donné qu'il existe du calcium dans ces sphérocristaux.

En effet, la méthode de Gomori de mise en évidence de la phosphatase alcaline révèle, dans les lames non soumises au glycérophosphate, le calcium et le fer essentiellement sous la forme de phosphate ou d'urate.

Nous avons donc essayé de révéler histochimiquement le fer ; les réactions ont été négatives. De même les phosphates n'ont pu être mis en évidence.

Les sphérocristaux contiennent donc du calcium, ce que confirme la réaction de Von Kossa qui le met bien en évidence, mais nécessite vingt-quatre heures d'exposition à la lumière.

L'analyse des excreta dans l'intestin postérieur montre que l'on a 0,1 p. 100 de fer contre 1,2 p. 100 de calcium (exprimés en Fe_2O_3 et CaO). Les phosphates existent bien dans les excreta, mais à faible concentration, moins de 1 p. 100 (exprimé en P_2O_5).

Il est donc probable que, dans les sphérocristaux, une partie de calcium existe sous la forme d'urate de calcium et une autre partie sous la forme de phosphate.

Nous trouvons d'autre part un mucopolysaccharide neutre dans les sphérocristaux de petite taille et acide dans les plus gros, ce que montre le bleu alcian et la métachromasie du bleu de toluidine. Les fixations par les liquides chromiques ont d'ailleurs tendance à acidifier ce mucopolysaccharide.

D'autre part, des protéines indéterminées, soit libres, soit liées à l'acide urique, existent manifestement dans ces sphérocristaux.

Examinés au microscope électronique, ces derniers apparaissent comme formés de couches concentriques alternativement opaques et claires. L'examen après des fixations diverses (Pl. XV) montre que ce contraste n'est pas dû à l'osmium, c'est un contraste propre, dû très probablement au calcium. On peut le vérifier en soumettant, pendant quelques secondes, au nitrate de plomb à 1 p. 100 des tubes fixés au formol. Le plomb remplace le calcium et le contraste des couches opaques est augmenté.

Les couches claires correspondent vraisemblablement à de l'acide urique qui ne présente pas, dans les conditions de fixation habituelles, un contraste accusé. Ce sont ces couches qui se développent après la chute des grains dans la lumière, les sphérocristaux intracellulaires donnent alors les urosphériles classiques de la lumière. Il est donc possible d'étendre cette dénomination à ces sphérocristaux intracellulaires.

Il était intéressant de comparer à ces sphérocristaux ceux des cellules à urates du corps gras. Or on constate que ces derniers sont assez différents. En effet, si une certaine zonation concentrique existe, elle est très faiblement prononcée et les couches claires d'acide urique constituent l'essentiel de l'urosphérile. Ceci s'explique, car les phénomènes d'accumulation ne sont pas les mêmes dans les deux cas. Dans le corps gras, on sait depuis longtemps (CUÉNOT, 1895) que seul de l'acide urique se dépose alors que dans les tubes de Malpighi, comme dans les lithiases humaines, il est probable que le dépôt de plusieurs substances a lieu successivement ou simultanément. La physiologie de ce dépôt est d'autre part différente de celui des tubes de Malpighi comme l'a montré HOLLANDE (1925).

b. LES GLOBULES. — Les globules ont été vus par de nombreux auteurs quand ils étaient colorés (WIGGLESWORTH, 1953), mais il a fallu attendre les observations au microscope électronique pour les identifier.

En effet, ces observations (MEYER, 1957 ; BERKALOFF, 1958) ont montré qu'il existait à côté des urosphériles des formations globulaires très semblables à celles connues depuis très longtemps dans les cellules tubulaires du rein sous le nom de gouttelettes hyalines ou de gouttelettes de résorption protéique (OLIVER et coll., 1954) et identifiées au microscope électronique par RHODIN (1954).

Ces globules, dans les tubes de Malpighi, sont extrêmement variés aussi bien par la forme que du point de vue de la couleur.

Ils peuvent en effet être homogènes et plus ou moins opaques aux électrons. Dans d'autres cas, ils possèdent des lames internes en plus ou moins grand nombre, souvent disposées parallèlement, ce qui fait penser à l'exis-

tence de phospholipides. Ils contiennent souvent des granules plus opaques que la substance fondamentale et, enfin, ils émettent ou absorbent à leur périphérie de petites vésicules claires que RHODIN note aussi dans le rein (1954). La membrane qui les limite est soit double, soit simple suivant les cas.

Quelquefois colorés du jaune pâle à un jaune très accusé, ils sont souvent incolores comme dans le rein. Le pigment, par son caractère A.P.S. et Adams positif, sa faculté de réduire le nitrate d'argent (CROMARTIE, 1959; PEARSE, 1960), semble être une lipofuscine. L'accumulation de lipofuscine dans ces formations est connue dans d'autres cas, notamment dans le rein de certains Batraciens (DA SILVA SASSO et coll., 1958) et dans le foie (ESSNER et NOVIKOFF, 1960). Cependant, d'autres auteurs (CHAUVIN, 1941; MARTOJA, 1959) interprètent différemment ce pigment chez d'autres Orthoptères. Mais il faut remarquer que les phospholipides qui constituent le point de départ des lipofuscines sont abondants dans ces globules et que l'apparition du pigment suit celle des phospholipides.

Ces globules se multiplient et leur taille augmente, comme nous le verrons, après une injection de protéines. Or il en est exactement de même dans les cellules tubulaires du rein (RHODIN, 1954).

Dans ce dernier organe, ces formations contiennent une phosphatase acide très active (STRAUS, 1956). Cette phosphatase acide n'a pu être mise en évidence dans les globules des tubes de Malpighi malgré plusieurs tentatives (MARTOJA, 1959); mais, comme elle existe dans les extraits de tubes (DRILHON, 1943; DRIHLON et BUSNEL, 1945), il est probable que notre insuccès est dû à une erreur technique. En effet, la méthode de Gomori est difficilement praticable du fait de l'existence d'urosphériles qui sont toujours positifs par suite de la présence de calcium dans leurs dépôts et on doit utiliser les méthodes aux naphtylphosphates qui ne nous ont pas donné de bons résultats sur les tubes entiers. Les coupes pratiquées à congélation après enrobement dans la gélatine, comme l'incubation de tubes vivants, ne nous ont pas non plus donné d'images assez précises pour pouvoir conclure nettement.

Nous pensons cependant que cette phosphatase acide est localisée dans ces formations qui s'apparenteraient donc aux lysosomes définis par DE DUVE (1955).

Ces globules sont faciles à mettre en évidence dans l'animal vivant à l'aide du bleu brillant de crésyle à 0.5 p. 1000, et c'est le gradient de répartition de ces structures que LISON a étudié dans son travail sur l'élimination des colorants (1938). Les globules représentent les granulations pré-existantes qui prennent énergiquement ce colorant dans la cellule et dont parle cet auteur. Ce caractère pourrait aussi rapprocher les globules des lysosomes, car BRACHET (1957) pense que l'affinité pour les colorants basiques est une des caractéristiques de ces structures.

De plus, il est très probable que ces globules correspondent aux granules fluorescents contenant des vitamines hydrosolubles en grandes quantités décrits par METCALF (1943) chez *Periplaneta* et présents chez la plupart des Insectes.

5° Les mitochondries. — Nous n'insisterons pas sur la structure des mitochondries qui est assez bien connue d'autant plus que les mitochondries du tube de Malpighi ne présentent pas de particularités notables. Nous ne préciserons que les points sujets à variations.

Les crêtes, dans les cellules actives, sont relativement peu nombreuses et sont formées de lames plus ou moins longues frangées de tubules. Les granules opaques fréquents dans les mitochondries sont ici particulièrement nombreux et parfois très volumineux. Rien ne prouve d'ailleurs qu'ils soient tous de même nature.

Les mitochondries sont extrêmement polymorphes dans les cellules fixées, mais, étant donné leur très grande labilité (FRÉDÉRIC, 1958), il est prudent de ne pas trop accorder de crédit à ces aspects.

Néanmoins, on peut observer un certain nombre de figures qui ne sont probablement pas des artefacts (Pl. XXI). Les mitochondries des tubes de Malpighi du Grillon englobent fréquemment des portions de cytoplasme. Cet englobement peut être partiel ou au contraire total et la mitochondrie est alors sphérique et creuse comme on peut s'en assurer sur des coupes sériées. PALADE (1959) a décrit un phénomène analogue dans le pancréas d'animaux à jeun.

L'association étroite des mitochondries et des membranes est frappante. Elle a été notée dans tous les organes excréteurs. Ce caractère se retrouve dans les tubes de Malpighi du Grillon. Dans la cellule fonctionnelle, il y a association aussi bien avec les cytomembranes périphériques qu'avec la membrane qui délimite la bordure interne. Cette association peut être due simplement à un effet mécanique, les cloisons radiales orientant les mitochondries, mais il semble bien que d'autres facteurs interviennent comme le suggère la figure 62. On y voit en effet une mitochondrie étroitement moulée sur une cytomembrane sans qu'aucune raison mécanique l'impose.

Ces mitochondries constituent, comme la plupart des auteurs l'ont admis, (FAWCETT, 1958 ; RHODIN, 1959) la source d'énergie nécessaire au transit de substances à travers les membranes. En effet, dans une cellule normale environ 10 p. 100 de l'énergie consommée par la cellule est utilisée pour l'absorption, dans les tubes de Malpighi ce pourcentage doit être supérieur. D'autre part et comme l'ont noté plusieurs auteurs (BESSIS et coll., 1957 ; FAVARD et CARASSO, 1958), elles peuvent accumuler dans leur cavité de nombreuses substances et notamment des ions et de l'eau (BARTLEY et DAVIES, 1954).

Nous verrons plus loin qu'elles sont d'autre part à l'origine de certains globules.

L'origine et la formation de nouvelles mitochondries est un problème qui se pose à propos de toutes les cellules, mais surtout dans les cellules excrétrices où elles sont particulièrement nombreuses. On admet généralement (ROUILLER et BERNHARD, 1956) qu'elles se forment à partir de vésicules appelées *microbodies* qui avaient été décrits par RHODIN en 1954. Il s'agit de formations vésiculaires ayant environ 0,1 μ de diamètre

et entourées par une membrane simple de 75 à 80 angströms d'épaisseur sans aucune autre différenciation. [ROUILLER et BERNHARD ont décrit l'acquisition d'une double membrane et l'apparition de crêtes.

Nous n'interprétons pas ces vésicules de la même façon pour plusieurs raisons. Tout d'abord, c'est dans des formations analogues que se forment les urosphérites ; ensuite, dans les tubes embryonnaires elles sont absentes alors que de nombreuses mitochondries se forment. Il existe de très petites mitochondries autour du noyau, elles sont plus petites que la moyenne des microbodies. De plus, ceux-ci sont surtout localisés dans la région basale de la cellule alors que les petites mitochondries se trouvent dans la région médiane.

Ces « jeunes » mitochondries présentent une caractéristique très nette : les membranes externe et interne n'ont pas le même aspect. La membrane externe est plus fine et moins contrastée que la membrane interne et cette distinction s'atténue au fur et à mesure que la mitochondrie grossit.

Certains auteurs ont décrit la chute de mitochondries des cellules tubulaires du rein dans la lumière (POLICARD et coll., 1957); dans le cas des tubes de Malpighi, un tel phénomène ne semble pas exister dans les cellules normales.

6° Les noyaux. — Les cellules du tube moyen sont toutes binucléées ; les noyaux sont identiques et présentent un ou deux nucléoles très visibles aussi bien sur le vivant qu'après les différentes fixations utilisées en microscopie électronique.

La membrane nucléaire est double, elle comprend une membrane interne épaisse et une membrane externe ondulée qui ressemble aux membranes flexueuses. Cette membrane présente la particularité d'être annelée dans certains cas, lisse dans d'autres. Peut-être ce caractère dépend-il des conditions de fixation. Les cellules possédant un noyau annelé sont cependant la plupart du temps beaucoup plus riches en ergastoplasme que les cellules dont le noyau a une membrane homogène (fig. 13).

Nous avons vainement essayé de fixer correctement les chromosomes et ceux-ci perdent toute structure à la fixation. Ils forment, après une fixation osmique, des masses amorphes et mal délimitées comme dans la plupart des cellules.

A l'aide du fixateur de Luft (1956), nous avons pu mettre en évidence à côté des chromosomes une structure absolument inconnue jusqu'à présent (1). Celle-ci est illustrée par les figures 14 et 15. Il s'agit de faisceaux de filaments au nombre de deux. Ces filaments possèdent une enveloppe contrastée et un axe clair. Ils ne sont pas visibles avec certitude sur le vivant et nous n'avons pu les observer qu'après fixation au permanganate.

Il s'agit là d'une formation extrêmement curieuse qui a certainement

(1) Des structures qui pourraient être identiques à celles que nous venons de signaler chez le Grillon ont été vues dans certaines cellules de la larve d'Abeille par M^{me} POCHON-MASSON (« Les structures nucléaires des cellules des glandes salivaires chez la larve d'Abeille », *C. R. Ac. Sc.*, sous presse).

un rôle qui nous échappe encore. Peut-être est-ce quelque chose d'analogue aux structures décrites par RUDZINSKA (1956), RUDZINSKA et PORTER (1955) dans le macronucleus de *Tokophrya*.

B. — LES MUCOCYTES.

De telles cellules sont connues depuis peu seulement chez les Insectes et c'est MARTOJA (1956) qui en signala le premier l'existence dans les tubes de Malpighi de *Locusta*, tandis que GAGNEPAIN (1957) montrait que les mucocytes pouvaient constituer tout un segment des tubes de Malpighi chez les larves de Libellules.

MARTOJA (1959) montra d'ailleurs que ces mucocytes étaient de deux sortes, les uns élaborant les mucopolysaccharides dans leur nucléole, les autres d'abord dans le cytoplasme, puis dans le nucléole. Chez le Grillon, il semble que le mucus ne soit produit que par le cytoplasme (BERKALOFF, 1960 a).

Leur répartition correspond à un gradient. En effet, nous n'en avons jamais trouvé dans le segment distal et leur densité augmente au fur et à mesure que l'on descend le long du tube pour atteindre un maximum au niveau du segment proximal.

Ce gradient de répartition se superpose bien aux autres gradients tel que celui de répartition du glycogène qui présente un maximum localisé de façon identique.

Les mucocytes observés au microscope optique paraissent très différents des cellules principales du tube de Malpighi. Or en les observant au microscope électronique, nous avons constaté qu'en fait ces mucocytes présentaient les deux caractéristiques fondamentales des cellules principales : les cytomembranes et la bordure interne (Pl. VIII). Mais cependant ni urosphériles ni globules ne sont présents ; c'est l'absence de ces formations qui leur donne au microscope optique un aspect si différent de celui des autres cellules. Cette absence signifie que ces mucocytes ne sont pas excréteurs.

Par ailleurs, on peut constater que les mitochondries y sont beaucoup plus fines, moins nombreuses et moins associées aux cytomembranes que dans les cellules principales (fig. 16).

La caractéristique essentielle de ces cellules est évidemment la présence de masses de mucopolysaccharides, celles-ci présentent l'aspect de formations lamellaires complexes (fig. 17) enserrant entre les lames la mucoprotéine proprement dite. Ces lames, ou ces vésicules aplaties, ne portent apparemment pas de ribosomes à leur surface ; elles rappellent plutôt des figures myéliniques. Entre ces amas complexes, on trouve de petites vésicules qui portent des ribosomes espacés sur leur surface et dont dérivent manifestement les vésicules empilées qui constituent les grosses masses de mucus. De telles cellules existent chez les autres Orthoptères que nous avons étudiés et, très souvent, chez *Mecosthetus* par exemple,

seules les vésicules isolées existent, elles grossissent séparément et on ne retrouve pas les lames concentriques.

Enfin on trouve dispersé dans tout le cytoplasme du glycogène. Celui-ci est sous la forme de rosettes de granules. Il est difficile à identifier dans les mucocytes du fait de cette dispersion, mais il est, au contraire, facile à caractériser dans les cellules banales où il revêt exactement le même aspect, mais où il se présente sous la forme de granules en amas denses atteignant un diamètre de plusieurs microns parfois. Ces amas sont faciles à mettre en évidence à l'aide de la réaction de Hotchkiss-MacManus et du carmin de Best contrôlés par une digestion salivaire.

Ce glycogène particulière paraît assez fréquent dans les cellules et a été notamment étudié par FAWCETT (1958 *a*), FAWCETT et SELBY (1958), CARASSO (1960), REVEL et NAPOLITANO (communication personnelle). Il semble correspondre à des molécules de glycogène liées à des protéines et pourrait représenter le desmoglycogène (WILLSTÄTTER et ROHDEWALD, 1934). Sa stabilité à la fixation semble confirmer cette hypothèse.

Le mucus s'élabore très probablement à partir du glycogène contenu dans les mucocytes, car celui-ci est dispersé entre les masses de mucus et y est particulièrement abondant.

L'élaboration du mucus dans les mucocytes est le fait des vésicules pourvues de grains de Palade dispersés qui sont communes à tous les mucocytes d'Orthoptères que nous avons étudiés (nous ne pensons pas qu'il faille envisager d'origine nucléolaire pour les mucopolysaccharides des mucocytes du Grillon). La basophilie de ces cellules est très accusée (MARTOJA, 1959) et il semble qu'il s'agit d'un ergastoplasme typique malgré la relative dispersion des grains de Palade.

L'élimination du mucus a lieu après une désorganisation de la bordure interne comme l'avait noté MARTOJA chez *Locusta*. Nous ne savons pas s'il peut y avoir plusieurs cycles d'élaboration et d'excrétion dans une même cellule.

Il est vraisemblable que les mucocytes dérivent directement des cellules banales et que leur métabolisme résulte d'une déviation du métabolisme normal, car ils possèdent les structures essentielles de la cellule principale. Peut-être dérivent-ils de cellules ayant déjà fonctionné.

3° Le segment proximal et le collecteur commun des tubes de Malpighi.

Le segment proximal du tube de Malpighi a, suivant les individus, un développement plus ou moins grand. Toutefois, il excède rarement 0,5 mm de long. Il est caractérisé par des cellules devenant de plus en plus hautes et étroites vers l'insertion du tube.

Une basale épaisse, aux lamelles bien distinctes, entoure le segment proximal et surtout le collecteur. Entre les différentes couches de cette basale (fig. 22) sont dispersées de nombreuses trachées et bandes musculaires. Les gros troncs trachéens du collecteur se ramifient vers les tubes.

Comme dans le tube moyen, nous trouvons des cytomembranes, mais leur développement est beaucoup plus réduit et l'ampleur du système va en diminuant au fur et à mesure que l'on se rapproche du collecteur au niveau duquel disparaissent les membranes flexueuses qui existent encore dans le tube proximal.

La bordure interne est différente de celle que l'on trouve dans le tube moyen. En effet, les digitations beaucoup plus fines, ne contenant pas de mitochondries, sont plus longues et plus séparées, tout en restant anastomosées. Cette bordure présente un caractère intéressant déjà noté par DAY (1949) et MARTOJA (1959) : elle contient une phosphatase alcaline extrêmement active, localisée uniquement dans les cellules du segment proximal et du collecteur, parfois seulement dans celles du collecteur.

Par contre, les urosphérîtes sont toujours absents de ces cellules. Quelques vacuoles à concrétion sont cependant visibles dans certaines cellules.

Une des caractéristiques principales de cette partie de l'appareil excréteur est la très grande stabilité des structures cellulaires qui subissent peu de modifications morphologiques.

L'urètre, ou canal évacuateur commun, n'a plus de bordure en brosse et sa lumière est revêtue par une très mince cuticule chitineuse sous laquelle on ne distingue aucune différenciation de la membrane cellulaire (fig. 24) (1).

Du point de vue physiologique, le collecteur et le segment proximal des tubes ne semblent pas sécréteurs, car les urosphérîtes y sont absents et les cytomembranes réduites. Il est raisonnable d'admettre qu'il s'agit là, tout au moins dans le cas du collecteur, d'un segment réabsorbant comme le supposent la plupart des auteurs et comme le suggère la présence de la phosphatase alcaline dans la bordure en brosse. La présence de vacuoles de pinocytose dans la zone apicale de la cellule indique d'autre part l'un des mécanismes possibles de cette réabsorption.

Il faut cependant noter que, s'il s'agit d'un segment réabsorbant, les cytomembranes sont extrêmement réduites alors que, dans le segment équivalent du rein des Vertébrés, c'est-à-dire dans les tubes contournés, elles sont beaucoup plus développées.

Ce qui est certain, c'est qu'il ne s'agit pas d'un segment fondamentalement différent du segment moyen du tube.

4° Le segment distal du tube et les tubes embryonnaires.

A chaque mue, y compris la mue imaginale, de nouveaux tubes de Malpighi viennent s'ajouter aux tubes déjà existants (FAUSSEK, 1911). Dans l'animal à cuticule encore molle, on trouve, à côté des tubes normaux, des tubes incolores notés en particulier par MARTOJA (1959).

Nous avons fait une étude de l'ultrastructure de tels tubes et nous avons

(1) NOIROT et NOIROT ont récemment montré que des structures réabsorbantes existent dans la portion terminale de l'intestin postérieur.

constaté qu'à quelques détails près elle était très semblable à celle du segment distal d'un tube fonctionnel. Ceci était déjà suggéré par l'aspect des cellules vivantes.

La différenciation de ces tubes embryonnaires se fait en effet depuis la zone proximale en remontant vers l'extrémité distale du tube. Elles s'arrêtent à une distance de 0,5 à 0,7 mm de l'extrémité, laissant une région indifférenciée, tout au moins en partie comme nous le verrons.

Les cellules embryonnaires possèdent un certain nombre de caractères particuliers.

Le fait le plus notable est la relative simplicité du contenu cellulaire comparé à celui d'une cellule en pleine activité (fig. 19).

Les cytomembranes sont réduites et entières. Les membranes flexueuses sont absentes, caractère qui va de pair, comme dans le collecteur, avec l'absence de perforations dans les cytomembranes (fig. 21). Les mitochondries sont massives et de toute taille, mais n'atteignent pas la longueur observée dans la cellule fonctionnelle. Elles sont de plus très denses. La bordure interne, très épaisse, est différente de celle de la cellule fonctionnelle. Elle est caractérisée par des digitations fines et toujours séparées ; il s'agit d'une véritable bordure en brosse.

La membrane de ces digitations, que montre en coupe transversale la figure 20, est particulièrement épaisse. La lumière du tube est souvent virtuelle, la bordure en brosse l'occupant entièrement.

On ne trouve pas d'urosphériles et l'absence absolument parallèle de vacuoles à concrétion est remarquable. De même, on constate que les structures hydrophiles n'existent pas dans ces cellules.

La basale qui enveloppe ces tubes est analogue à celle d'un tube fonctionnel.

En prélevant les tubes de Malpighi à divers moments s'échelonnant de quelques minutes à quelques heures après la mue, on peut reconstituer les phénomènes de différenciation, qui semblent plus ou moins rapides suivant les individus et même suivant les tubes.

Dans une première phase, on observe le développement des cytomembranes pendant que la bordure en brosse voit son épaisseur diminuer. Les mitochondries s'engagent très tôt dans les digitations.

Le segment distal d'un tube fonctionnel montre la plupart du temps, surtout dans les premières cellules suivant le segment moyen, ces premiers stades de la différenciation, mais il ne les dépasse pas.

Dans une deuxième phase, on assiste à l'acquisition des vacuoles à concrétion et à la formation des urosphériles, pendant que le système de cytomembranes se développe beaucoup.

Étant donné ce que l'on sait de la différenciation des cellules tubulaires du rein (CLARK, 1957), il est fort probable que les cellules embryonnaires que nous décrivons sont en réalité déjà partiellement différenciées. Il s'agit là d'une première phase qui peut durer quelques heures pour les cellules destinées à devenir fonctionnelles et se prolonger toute la vie de l'animal pour celles qui constituent le segment distal du tube. Les cellules

réellement embryonnaires que nous n'avons jamais pu observer (on doit les trouver dans l'embryon) sont probablement dépourvues de cytomembranes.

Du point de vue physiologique, il est très important de noter l'absence de transit d'eau dans ce segment marqué par le refoulement et l'immobilité des urosphérites venus de la lumière du segment moyen. Ceci suppose une absence de transit d'eau à travers les cellules, car un équilibre exact et continu entre l'excrétion et la réabsorption est très peu probable. Or, parmi les cellules du tube distal, quelques-unes ont des cytomembranes plus développées que certaines cellules du tube moyen. L'existence des cytomembranes n'entraîne donc pas celle d'un transit d'eau. Nous observons un phénomène inverse dans le segment proximal et le collecteur.

Ce segment ne peut donc être comparé, du point de vue physiologique, au glomérule du rein et par conséquent il est peu probable qu'il y ait excrétion par ce segment et réabsorption par le reste du tube comme le suppose WIGGLESWORTH (1953).

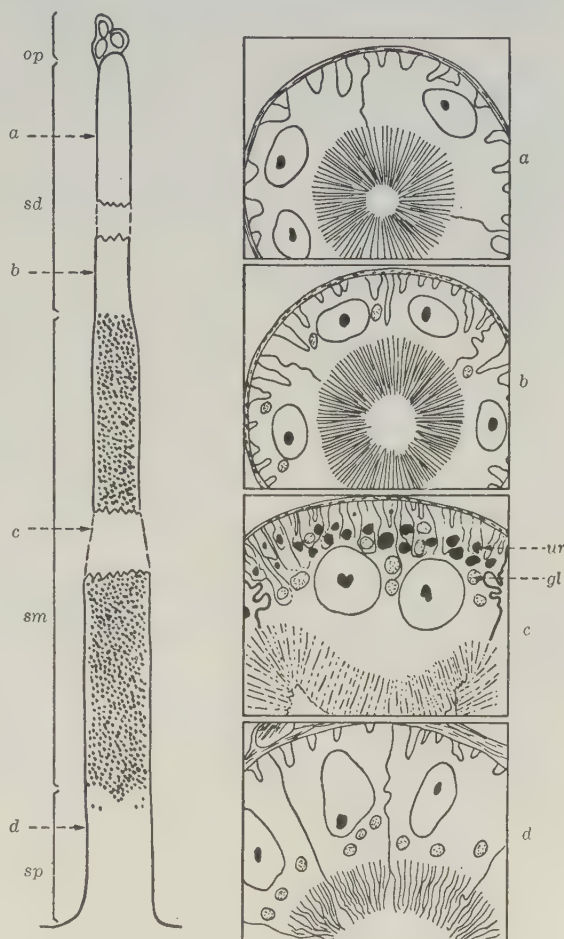


SCHÉMA n° 6. — Les cellules aux différents niveaux du tube.

Le segment distal (*sd*), coiffé par l'organe phagocytaire (*op*), ne comprend que des cellules à cytomembranes réduites et sans urosphérites. La section *a* est effectuée près de l'extrémité, tandis que la section *b* l'est au niveau de la jonction avec le segment moyen (*sm*).

Ce dernier comporte des cellules à cytomembranes développées, urosphérites (*ur*) et globules (*gl*) nombreux.

Le segment proximal (*sp*) ne contient que des cytomembranes réduites et des globules.

La bordure interne a un aspect particulier au niveau de chacun des segments. Elle est haute et formée de digitations fines et séparées au niveau du segment distal. Ces digitations sont plus massives et plus anastomosées dans le segment moyen, tandis que dans le segment proximal elles sont longues, fines et souvent anastomosées.

**5^o Les cellules des tubes de Malpighi des Orthoptéroïdes
et autres Insectes.**

Nous avons rapidement examiné les tubes de Malpighi des Orthoptéroïdes, des Blattoptéroïdes et Dermaptéroïdes suivants :

Dermapteroidea : <i>Forficula auricularia</i> L.		
Blattoidea :	<i>Loboptera decipiens</i> Geru.	Acridoidea : <i>Ædipoda cærulescens</i> L.
Mantoidea :	<i>Mantis religiosa</i> L.	<i>Stenobothrus</i> sp. Fischer.
Grylloidea :	<i>Gryllus domesticus</i> L.	<i>Mecosthetus grossus</i> L.
	<i>Gryllus campestris</i> L.	
Acridoidea :	<i>Truxalis nasuta</i> L.	Tettigonioidea : <i>Tettigonia viridissima</i> L.
	<i>Caloptenus italicus</i> L.	<i>Decticus albifrons</i> F.
	<i>Ædipoda miniata</i> Pall.	<i>Ephippiger vitium</i> Serv.

Tous ces Insectes ont été fixés à leur période d'activité maximum supposée, c'est-à-dire en plein soleil à quatre heures de l'après-midi, sauf pour *Loboptera*, qui a été fixé après la tombée du jour.

Les fixations ont été effectuées à l'aide du liquide de Palade dans les mêmes conditions que pour le Grillon domestique.

Dès le premier abord, on constate que l'appareil excréteur présente, chez ces Insectes, une assez grande homogénéité malgré les nombreuses variations anatomiques et malgré les différences d'aspect des tubes vivants.

Chez tous existe la même division de l'appareil en un système collecteur, comprenant une ou plusieurs ampoules réceptrices, et les tubes de Malpighi proprement dits. Ceux-ci présentent les mêmes segments que ceux du Grillon et on peut distinguer un segment proximal plus ou moins dépourvu d'urosphériles, un segment principal contenant de nombreuses granulations, dont des urosphériles, et enfin souvent un segment terminal incomplètement différencié (VENEZIANI, 1904).

Ces différents segments nous semblent absolument homologues de ceux décrits chez le Grillon.

Cette homogénéité dans l'anatomie de l'appareil excréteur se retrouve au niveau de l'architecture cellulaire, surtout au niveau du segment moyen des tubes. En effet, on retrouve dans les cellules excrétrices les mêmes structures et leur disposition est analogue. Ainsi cytomembranes, bordure interne existent partout, urosphériles et globules sont présents mais en nombre variable. On trouve de plus quelques inclusions particulières chez certaines espèces examinées, notamment des cristaux de forme variée.

Ces structures présentent des variations de détail d'une espèce à l'autre, mais celles-ci ne semblent pas entraîner de différences fondamentales dans le fonctionnement cellulaire.

Enfin, comme chez le Grillon domestique, à côté des cellules excrétrices normales s'observent des mucocytes comme l'avait déjà noté MARTOJA (1956 et 1959).

Les cytomembranes ont un aspect et une structure identique à celle du Grillon. En effet, elles apparaissent homogènes, sans structure fine et présentent des perforations. Celles-ci sont cependant rarement aussi fréquentes que chez le Grillon. Le développement des cytomembranes est très variable d'une cellule à l'autre le long du segment moyen du tube et, comme nous l'avons constaté chez le Grillon, il ne semble pas en rapport avec le niveau de la cellule dans ce tube. Ces variations sont apparemment dues aux mêmes phénomènes de charge et de fonctionnement cellulaire.

L'amplitude moyenne des cytomembranes varie un peu d'une espèce à l'autre; cependant, la Mante religieuse se sépare des autres Orthoptéroïdes par la réduction de son système absorbant périphérique.

Les cytomembranes sont dues à l'existence d'interpénétrations basales de cellules voisines mêlées à des digitations propres à la cellule comme c'est apparemment le cas chez le Grillon. Nous l'avons vérifié chez plusieurs individus de *Decticus albifrons* F. qui présentaient la particularité d'avoir des cellules opaques aux électrons intercalées entre des cellules claires. Dans l'un de ces tubes (schéma 7), nous avons pu, à l'aide de quelques coupes sériées, étudier la disposition et la profondeur de pénétration des digitations intercellulaires et constater, ce que nous avons déjà supposé chez le Grillon, que seules les digitations marginales étaient dues à ces interpénétrations cellulaires.

Nous avons essayé d'établir dans quelle mesure le régime alimentaire influait sur la quantité ou la structure des urosphérites contenus dans les cellules. Or, contrairement à ce que nous attendions, celles-ci semblent relativement indépendantes de ce régime et on ne trouve pas beaucoup plus d'urosphérites chez un carnivore comme *Mantis religiosa* L. ou *Decticus albifrons* F. que chez



SCHÉMA n° 7. — Section d'un tube de Malpighi de *Decticus albifrons*.

Dans ce cas particulier, une cellule claire (CC) et deux cellules sombres (CS) sont visibles dans la section aa. Seuls les compartiments marginaux de la cellule claire sont sombres et appartiennent aux cellules voisines, les compartiments axiaux, étant clairs, dépendent de la cellule elle-même.

un omnivore comme *Truxalis nasuta* L. ou surtout les *Gryllus*, ou des végétariens stricts comme la plupart des Acridiens. On peut tout au plus noter la présence d'urosphérîtes de forte taille chez les carnivores.

Par contre, il semble bien que le nombre et la morphologie des globules soient en relation avec ce régime. En effet, chez la plupart des Acridiens comme *Edipoda*, *Mecosthetus* et *Stenobothrus*, qui sont herbivores, ces globules sont très rares alors que, chez des carnivores systématiquement éloignés comme *Mantis* et *Decticus*, ils sont fréquents et atteignent une taille élevée. Leur présence est donc due ou tout au moins liée à une excrétion protéique abondante. On peut le vérifier chez un omnivore comme le Grillon. En soumettant celui-ci à un régime carné exclusif (il suffit pour cela de le priver d'eau, ce qui provoque le cannibalisme), on entraîne la formation de globules de forme et de taille semblables à celles constatées chez les carnivores.

Globules et urosphérîtes ne sont d'ailleurs pas les seules enclaves cellulaires, on trouve en effet d'autres cristaux. Par exemple chez les *Stenobothrus*, à côté des urosphérîtes toujours très petits, on trouve des cristaux allongés de 0,5 à 2 μ de long dont on ne voit, semble-t-il, que le fantôme, après une fixation osmique. Ces cristaux correspondent aux baguettes brunes que l'on observe dans les tubes de Malpighi vivants de ces Insectes et qu'avait déjà notées CUÉNOT (1895).

Les systèmes membranaires accessoires sont relativement variables sans que l'on puisse trouver de relation nette avec une particularité physiologique.

Ainsi, les membranes flexueuses sont partout présentes, mais ont rarement l'ampleur observée chez le Grillon et ceci peut probablement être mis en parallèle avec la plus grande rareté des perforations. Chez *Stenobothrus*, où ces membranes sont assez abondantes, on peut observer les divers stades de la transformation de cytomembranes en membranes flexueuses ; ils sont absolument analogues à ceux décrits chez le Grillon.

Chez *Stenobothrus*, il est d'ailleurs très difficile de séparer les vésicules formées par les membranes flexueuses des petites vacuoles qui remplacent, du point de vue topographique tout au moins, les structures hydrophiles observées chez le Grillon. En effet, ces vacuoles ne contiennent pas les tubules que nous avons décrits chez ce dernier. Néanmoins, on peut admettre qu'il s'agit d'une même structure. Chez cet Insecte, et probablement chez les autres Acridiens au moins, les processus d'absorption périphériques du tube de Malpighi sont analogues à ceux montrés chez le Grillon.

Si les structures cellulaires présentes chez le Grillon le sont aussi chez d'autres Orthoptéroïdes, chez des Blattoptéroïdes et Dermaptéroïdes, celles qui sont absentes ou réduites chez lui le sont aussi chez ces derniers. Ainsi, l'ergastoplasme, si peu développé dans les tubes de Malpighi du Grillon comme dans la plupart des organes excréteurs, est aussi réduit chez les

autres Orthoptéroïdes examinés sauf chez les *Ephippiger*, qui font exception avec leurs nombreuses lames ergastoplasmiques.

Il semble donc que, dans l'ensemble, l'appareil excréteur des Insectes examinés par nous présente une structure homogène tant du point de vue anatomique que du point de vue cytologique. Il est donc très probable que le fonctionnement en est identique.

CHAPITRE III

MODIFICATIONS EXPÉRIMENTALES DES ULTRASTRUCTURES CELLULAIRES

L'étude des modifications induites expérimentalement dans les cellules excrétrices est toujours difficile à mener, car, très souvent, les conditions d'expérimentation comme les procédés de fixation entraînent des modifications tellement importantes de la morphologie cellulaire que l'effet propre des facteurs expérimentaux s'en trouve obscurci.

C'est pourquoi, dans une première phase, nous avons étudié l'influence de ces conditions d'expérimentation sur un animal normal.

Nous exposerons tout d'abord l'effet du jeûne, puisque la plupart des animaux ne se nourrissent pas durant les premières heures après une intervention et que dans beaucoup de cas nous leur supprimons la nourriture. Puis nous examinerons celui de l'eau et des solutions physiologiques dans lesquelles étaient dissoutes les substances injectées.

Nous étudierons enfin les modifications induites par quelques substances comme les sels à forte concentration et les protéines.

1° Influence du jeûne.

Pendant vingt-quatre heures, l'effet du jeûne total sur un animal normal n'est pas perceptible. Au delà de ce temps, il se marque le plus souvent par une épuration cellulaire et par une transformation de beaucoup de mitochondries, surtout dans la région proximale. Celles-ci se dilatent, s'arrondissent et se chargent en une substance osmophile dense. Les autres mitochondries présentent seulement un certain gonflement. Cette transformation correspond assez exactement à celle décrite dans le foie de Rat à jeun (GANSLER et ROUILLER, 1956). Elle est particulièrement marquée au bout de quatre jours. Il est donc prudent de ne pas prolonger le jeûne des animaux expérimentaux plus de quarante-huit heures si l'on veut ne pas voir interférer les modifications dues au jeûne avec celles qui sont spécialement étudiées. Par ailleurs, la bordure interne voit ses digitations s'amincir et se séparer plus ou moins complètement tandis que la zone fibreuse devient très visible.

Le transit d'eau du milieu intérieur vers la lumière se réduit considérablement et les urosphérites de la lumière grossissent beaucoup, atteignant plusieurs microns de diamètre. Enfin la pigmentation des cellules augmente

de façon très nette deux ou trois jours après le début du jeûne, parfois même avant.

**2^o Excrétion de l'eau,
effets morphologiques d'un milieu intérieur hypotonique.**

Que l'eau distillée utilisée pour abaisser la pression osmotique du milieu intérieur soit injectée dans la cavité générale ou dans le tube digestif antérieur d'un animal décapité l'effet semble le même avec un retard plus ou moins grand dans le second cas. Au contraire, le traitement d'un appareil excréteur isolé par une solution hypotonique ne peut être maintenu plus de quelques secondes sans lésions irréversibles ; les résultats ne sont alors pas exploitables.

Nous pensons pouvoir retenir comme significatifs les résultats obtenus quel que soit le moyen d'abaisser la tension osmotique, et maintenus pendant plusieurs heures.

Nous admettons que, dans la mesure où elles sont réversibles, les transformations ont une signification physiologique et peuvent fort bien avoir lieu dans l'animal normal.

L'expérience qu'illustrent les planches XI, XII et XIII a été réalisée de la façon suivante : des imagos ont subi toutes les heures une injection de 0,05 à 0,1 cm³ d'eau distillée dans la cavité générale et ceci à cinq reprises. Ils étaient sacrifiés une heure après la dernière injection. Des animaux de contrôle ont été sacrifiés quinze et trente minutes après une seule injection.

Les résultats ainsi obtenus peuvent être considérés comme caractéristiques, les autres méthodes ayant donné les mêmes résultats.

Nous avons ainsi réalisé une néphrose osmotique que nous allons tout d'abord étudier, puis nous comparerons les résultats à ceux obtenus chez les Vertébrés, notamment par ROUILLER et MODJABATAI (1958) chez le Lapin, et enfin nous essaierons d'en tirer quelques conclusions du point de vue physiologique.

La transformation la plus frappante est une vacuolisation intense du cytoplasme qui commence dans la région basale de la cellule. Dans leur état normal, les cellules des tubes de Malpighi des Orthoptères se distinguent nettement de celles des tubes contournés du rein des Vertébrés par l'absence de vacuoles ; ici, au contraire, celles-ci envahissent le cytoplasme lui-même hydraté (fig. 25 et 27). Ces vacuoles correspondent à des formations préexistantes ; en effet, la cellule normale (fig. 26) contient, comme nous l'avons vu, des formations spéciales comportant une membrane simple entourant une vésicule dans laquelle se trouvent des tubules ; or les vacuoles contiennent des tubules analogues et il existe des intermédiaires entre les vésicules et les vacuoles. Pour cette raison, nous avons appelé ces formations des structures hydrophiles. Celles-ci ne semblent cependant pas constituer des organites spéciaux.

Les mitochondries, de leur côté, présentent toutes des figures de tumé-

faction trouble (VIRCHOW, 1871 ; ZOLLINGER, 1948 ; CAMERON, 1952). Elles sont globuleuses et la substance fondamentale a un aspect granuleux. Leur structure n'est cependant pas profondément altérée.

Les cytomembranes sont, elles, beaucoup plus affectées, comme le montre la figure 27. On peut observer que, tout au moins dans la région basale, leurs deux composantes peuvent s'écarter, sans former cependant des vacuoles. Ces cytomembranes semblent beaucoup plus anastomosées que dans la cellule normale ; ceci est peut être dû à la multiplication des digitations périphériques comme à leur gonflement par hydratation du cytoplasme. (Nous avons retrouvé une transformation analogue chez un animal venant de boire abondamment après un jeûne prolongé).

La bordure interne, elle aussi, subit des transformations comme le montre la figure 28. Les digitations sont complètement séparées et montrent bien leur structure interne : on voit bien en particulier le canalicule axial. (Il est à noter qu'une figure analogue s'observe après une fixation au permanganate d'une cellule normale, ce dernier contractant seulement un peu les structures).

Les résultats de cette expérience sont pratiquement identiques à ceux obtenus par ROUILLER et MODJABATAI (1959) dans les cellules tubulaires du rein du Lapin après une injection intrapéritonéale de sucrose.

Dans ce dernier cas, le milieu est hypertonique ; dans notre expérience, il est hypotonique ; or nous obtenons les mêmes résultats. Cela résulte du fonctionnement différent des cellules tubulaires du rein et des cellules des tubes de Malpighi du Grillon. En effet, dans l'expérience de ROUILLER, on observe une chute de l'excrétion urinaire pendant que se développent les altérations cellulaires ; dans notre cas, il y a augmentation de l'élimination d'eau : les excréta sont liquides.

Le résultat n'en est pas moins le même du point de vue morphologique et du point de vue physiologique puisqu'il y a accroissement du transit d'eau à travers la cellule dans les deux cas ; il y a résorption accrue dans le rein, élimination accrue dans les tubes de Malpighi.

Nous ne savons pas exactement comment se fait le transit d'eau dans la cellule. Néanmoins, la formation des vacuoles par gonflement des structures hydrophiles commence à la périphérie de la cellule où se trouvent ces structures qui envahissent ensuite tout le cytoplasme (fig. 25) ; ainsi il y a augmentation de la teneur en eau de la cellule à partir de la zone basale. D'autre part, on observe des vacuoles, il est vrai très petites, dans les digitations de la bordure en brosse (fig. 25 et 28). Ces vacuoles sont soit éliminées comme les urosphériles, soit résorbées sur place.

La formation de vacuoles à partir de structures préexistantes de la périphérie cellulaire n'a pas été observée dans le rein par ROUILLER ; elle traduit une autre différence dans le fonctionnement cellulaire entre les tubes contournés du rein et les tubes de Malpighi.

Toutes ces transformations sont parfaitement réversibles et le retour à la normale complet demande de vingt-quatre à quarante-huit heures, suivant la quantité d'eau injectée et suivant les individus. Par consé-

quent, au bout d'une douzaine d'heures, on peut considérer que les tubes de Malpighi ont réussi à rétablir une pression normale.

Le retour à la normale s'accompagne d'une régression progressive des vacuoles en structures hydrophiles typiques, tandis que la tuméfaction trouble s'atténue.

Cette régression montre qu'au moins en partie les vacuoles ainsi formées servent de volant dans l'excrétion de l'eau et permettent d'adapter le fonctionnement continu de la cellule aux variations brusques de la pression osmotique de l'hémolymph.

3° *Les solutions hypertoniques.*

Nous n'avons utilisé des méthodes du même type que pour obtenir une hypotonie du milieu. Nous avons injecté à des imagos de Grillon des solutions à 10 p. 100 de chlorure de sodium et de phosphate de sodium, et une solution à 75 p. 100 de sucrose. De plus, nous avons plongé des tubes isolés dans du liquide de Ringer contenant 1 p. 100 et 10 p. 100 de chlorure de sodium pendant dix minutes.

La fixation était effectuée dans du liquide de Palade sans addition de sels, car des essais préalables nous ont montré que cela n'ajoutait rien à la conservation des structures.

D'une façon générale les Insectes supportent très bien les augmentations de la pression osmotique interne et il faut des concentrations très fortes pour obtenir un effet quelconque sur les cellules.

Dans les cas d'hypertonie peu prononcée, nous n'avons pas observé de modifications des cytomembranes. Par contre, les structures hydrophiles se multiplient et se répartissent dans tout le cytoplasme. Elles sont d'une part très aplaties, comme déshydratées, et les tubules y sont d'autre part très nombreux (surtout après une injection de phosphates). Quelques mitochondries présentent des figures de tuméfaction trouble ; ce gonflement en présence d'un milieu hypertonique indique que ce phénomène n'est pas un phénomène osmotique.

D'autre part, on ne constate jamais d'accroissement du nombre des urosphérites ni de leur taille même lorsque le sel injecté participe probablement à leur formation, comme c'est le cas pour les phosphates. On peut en déduire que les vacuoles à concrétion ne sont pas seulement des vésicules concentrant les sels en excédent du milieu intérieur sous forme insoluble. La formation des urosphérites n'est pas liée à l'excrétion normale des sels, ou tout au moins à l'excrétion rapide de ceux-ci.

Une hypertonie plus prononcée, par exemple l'immersion des tubes dans du Ringer à 10 p. 100 de chlorure de sodium pendant plusieurs minutes, provoque des altérations très accusées des cytomembranes qui se multiplient et s'associent en formations contournées ressemblant à des formations myéliniques. On observe de plus une tuméfaction trouble de la plupart des mitochondries. Dans une solution aussi concentrée que

celle utilisée, un gonflement indique une altération profonde de la perméabilité des membranes mitochondriales. La répartition des mitochondries en deux catégories, celles présentant une tuméfaction trouble et celles restant intactes, indique que certaines d'entre elles sont susceptibles de résister à cette altération. La tuméfaction trouble n'est pas, comme nous venons de le noter, un phénomène purement osmotique, il est dû apparemment à une modification du système enzymatique de la mitochondrie (CHAPPELL et GREVILLE, 1960).

Un tel gonflement et surtout une telle partition en deux catégories des mitochondries se retrouve dans les fixations au permanganate des cellules normales. Ils sont donc dus à une altération identique des mitochondries. Le gonflement de ces structures n'est pas lié à l'hypotonicité du fixateur de Luft puisque nous le retrouvons en présence d'un milieu hypertonique comme d'un milieu hypotonique et il semble vain de rechercher, comme l'ont fait de nombreux auteurs, à améliorer ce fixateur en ajustant sa pression osmotique.

L'interprétation physiologique de ces résultats nous paraît assez difficile, car, si les sels sont effectivement éliminés par les tubes, le microscope électronique ne nous permet pas de les suivre. C'est seulement en utilisant des solutions salines très concentrées qu'on observe la formation de cristaux intracellulaires, encore n'est-on pas sûr qu'il s'agit du sel injecté. Le seul fait à peu près certain dans ces cas est qu'il s'agit de formations indépendantes des urosphériles.

La multiplication des structures hydrophiles indique, par analogie avec les cas d'hypotonie, que le débit de liquide augmente à travers la cellule mais les vésicules ne se dilatent pas en vacuoles comme c'était le cas alors. Cet accroissement du débit permettrait l'élimination des sels et devrait être compensé par une réabsorption de l'eau.

4^o Effet morphologique des injections de protéines.

Nous avons procédé à des injections d'ovalbumine et de peptone à 10 p. 100 dans du liquide de Ringer à 0,75 p. 100; nous avons constaté deux phénomènes parallèles : tout d'abord la formation de globules dans la zone médiane de la cellule, ensuite celle d'urosphériles qui apparaissent dans la région basale et sont éliminés dans la lumière où ils s'accroissent.

A. — FORMATION DES GLOBULES.

L'existence des globules est un caractère fondamental des organes excréteurs, mais ils n'ont été étudiés jusqu'à présent que dans le foie et le rein des Vertébrés.

RHODIN (1954) décrit, comme nous l'avons vu, ces formations sous le nom de *big globules* dans les cellules tubulaires du rein. GANSLER

et ROUILLER (1956) mirent en évidence des structures analogues dans le foie et admirent leur origine mitochondriale.

Mais STRAUS (1956, 1957) et NOVIKOFF (1956) les isolèrent et les relièrent aux lysosomes découverts par DE DUVE (1955). L'étude de ces globules hyalins prit alors un intérêt particulier.

Mais, si beaucoup d'auteurs comme NOVIKOFF (1959 *b*), FARQUHAR et PALADE (1960 *a*, 1960 *b*) pensent qu'ils se forment par suite d'une résorption par pinocytose des protéines de la lumière du tube, d'autres notent que la formation des globules s'accompagne d'une altération morphologique (GANSLER et ROUILLER, 1956 ; WALLACE, 1960) et physiologique (WALLACE, 1960) des mitochondries et pensent comme OLIVER et coll. (1955) que ces globules se forment à partir des mitochondries.

Nous avons voulu vérifier que les mêmes phénomènes se retrouvaient chez le Grillon. En effet, on constate qu'entre six et vingt-quatre heures environ après une injection d'albumine des globules nombreux se forment dans les cellules des tubes de Malpighi tout comme dans le rein.

Il nous fallait tout d'abord vérifier si la pinocytose était bien à l'origine de ces formations. Nous avons effectué, simultanément avec FARQUHAR et PALADE (1960 *b*), l'expérience consistant à marquer une protéine avec du fer. Ces auteurs utilisaient de l'hémoglobine qu'ils injectaient à des Rats, nous avons employé chez le Grillon du peptonate de fer en solution à 10 p. 100 dans du liquide de Ringer. Or les résultats ont été bien différents.

En effet, nous avons trouvé dès quelques heures après l'injection (entre une et six heures suivant les individus) une concentration du fer dans certaines vacuoles. Dans les animaux sacrifiés vingt-quatre heures après, elles en contenaient toutes (fig. 40). Nous verrons d'ailleurs plus loin que les urosphériles se développaient au sein de cette masse opaque et finement granuleuse.

Pendant ce temps, les globules se multipliaient et grossissaient dès la sixième heure environ. Ils n'étaient pas beaucoup plus opaques que les globules préexistants, seules les lames phospholipidiques paraissaient plus contrastées qu'habituellement, mais comme avec une peptone sans fer un phénomène un peu analogue a lieu nous ne saurions affirmer que ce contraste est dû au fer. Il est cependant probable qu'une partie de celui-ci au moins soit due à la protéine marquée.

La lumière du tube devenait nettement opaque environ vingt-quatre heures après l'injection et nous avons obtenu les mêmes images négatives de la bordure interne que FARQUHAR et PALADE.

Dans ce cas et dans de très rares cellules seulement, nous avons observé exactement les mêmes phénomènes de pinocytose que ces auteurs.

Nous avons effectué deux expériences contrôles : la première consistait en une injection de peptone sans fer, elle nous permettait de distinguer les transformations dues à la peptone, la seconde était une injection de citrate de fer de façon à suivre le fer indépendamment de la peptone. Dans ce dernier cas, nous n'avons pu déceler le fer avec certitude dans

aucun des animaux et il était notamment absent des vacuoles à concrétion. Son élimination ou bien était beaucoup trop rapide ou bien s'était effectuée sous une forme que nous n'avons pu fixer.

Cette expérience nous a paru très intéressante et pose de très nombreux problèmes.

En effet, un premier point est à noter : le fer est présent dans les cellules avant de l'être dans la lumière. Comme il semble que ce fer soit bien lié encore à la peptone dans les vacuoles à concrétion, puisque le citrate de fer ne donne pas les mêmes résultats, on admettra que la protéine traverse la cellule, et ceci par l'intermédiaire des vacuoles à concrétion.

Ensuite, on observe que les globules se développent avant le passage de la peptone dans la lumière. Enfin la pinocytose a bien lieu, mais dans des cellules très peu nombreuses. Nous avons examiné en détail ces cellules.

Elles présentent toutes un point commun : le cytoplasme apical est très hydraté et les digitations de la bordure interne sont souvent gonflées. Dans cette zone pénètrent de larges digitations contenant une substance absolument analogue à celle observée dans la lumière. Le reste du cytoplasme est normal.

N'ayant pu poursuivre au-delà de trente-six heures notre expérience nous ne savons pas si cela représente seulement le début de phénomènes de résorption ou si le phénomène n'est pas effectivement rare. Cependant deux faits sont certains ; tout d'abord, des globules se développent avant la pinocytose ; ensuite, les vacuoles ainsi formées ne s'observent jamais dans la cellule normale ; or, étant donné leur taille et leur forme, elles devraient se remarquer aisément même sans marquage au fer.

Cette pinocytose ne saurait donc être à l'origine des globules que nous voyons apparaître entre la sixième et la vingt-quatrième heure. Cependant, il n'est pas impossible qu'à plus longue échéance d'autres se forment par ce procédé et que, parmi les globules contenus dans la cellule il y en ait de plusieurs origines, ce que suggérerait leur polymorphisme fréquent.

En effet, nous avons observé la formation d'inclusions semblables aux globules dans des cas variés. Leur aspect est différent au début, mais on assiste ultérieurement à une convergence.

Ainsi nous avons constaté (p. 906) qu'au bout de deux jours de jeûne environ les mitochondries s'opacifiaient après s'être gonflées et qu'au bout de quatre jours les inclusions ainsi formées ressemblaient beaucoup aux globules préexistants de la cellule.

Des altérations mitochondriales s'observent aussi dans toutes les expériences d'injections de protéines. Chaque fois le processus est le même : au bout de quelques heures certaines mitochondries se dilatent, les crêtes se désorganisent tandis que la substance fondamentale s'opacifie parfois. La vésicule ainsi formée est pourvue d'une double membrane et conserve intacts les granules opaques caractéristiques des mitochondries.

Or, parmi les globules en formation dans la cellule, certains présentent aussi une double membrane et des granules opaques tandis que d'autres présentent une membrane double interrompue ; enfin les globules défi-

nitifs ont une membrane simple. Une évolution analogue des mitochondries s'observe lors de la formation des plaquettes vitellines de la *Planorbe* (FAVARD et CARASSO, 1958).

Il existe donc des intermédiaires nombreux entre mitochondries et globules, ce qui suggère fortement une origine mitochondriale des globules que nous avons vu se former dans les premières heures après les injections de peptones. L'existence d'une membrane simple ne peut en effet à elle seule exclure une telle origine.

On observe enfin parfois autour des mitochondries en cours d'altéra-

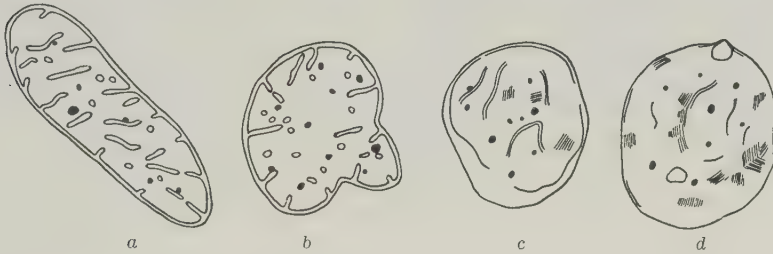


SCHÉMA n° 8. — Évolution d'une mitochondrie après une injection de protéine.

La mitochondrie normale (a) s'arrondit en b, puis, tandis que les crêtes se disloquent, la membrane interne se rompt. Seuls les granules subsistent alors (c).

En d, la membrane des globules est simple ; les amas phospholipidiques peuvent être nombreux.

tion et de certains globules des lames d'apparence myélinique qui font penser que le cytoplasme pourrait intervenir dans cette évolution. Dans certains cas, c'est la mitochondrie qui enveloppe une portion de cytoplasme dans laquelle se développent des lames. Les globules correspondent alors à des formations complexes analogues à celles que l'on trouve dans les processus de phagocytose (SCHULTZ, 1958 ; SCHULTZ et DE PAOLA, 1958). Elles semblent exister aussi dans le rein (STRAUS et OLIVER, 1955).

Mais, dans d'autres cas, cette altération mitochondriale est plus complexe et surtout plus spectaculaire. Les planches XVIII, XIX et XX illustrent ce phénomène.

Nous l'avons observé lors d'une étude de la phagocytose après une injection de spermatocytes d'*Ascaris*.

La phagocytose commence un jour après l'injection et c'est peu après, entre six et neuf heures, que les tubes présentent une réaction notable. On constate alors que certaines mitochondries se distinguent peu à peu des autres par une augmentation de taille et une multiplication des crêtes qu'illustre la figure 45. Très rapidement, ces mitochondries deviennent différentes des autres (fig. 46 et 47), et on constate que crêtes et granules s'y développent de façon anarchique tandis que la taille augmente toujours (fig. 48). De telles images mêlées à d'autres correspondant à des stades antérieurs s'observent quarante-huit heures après l'injection. Dès ce stade, on remarque d'ailleurs une nouvelle catégorie de globules présentant tous les intermédiaires avec les grosses mitochondries et bien dis-

tincts des globules normaux (fig. 49 et 50) qui ne présentent aucune modification (fig. 51). Ils sont caractérisés par de nombreuses lames désordonnées et des amas de granules plus ou moins gros, tout comme les globules se développant après une injection de protéines. Les lames ne sont probablement plus des crêtes, mais des figures myéliniques. D'autres globules ne présentent plus que de rares lames, mais des masses structurées

de phospholipides (fig. 50 et 51) et des amas protéiques.

Des figures analogues ont été observées par JEZEQUEL (1959) dans un cas de dégénérescence myélinique de mitochondries et par ANDRÉ (communication personnelle) dans certaines mitochondries au cours de la spermatogénèse.

On constate de plus l'apparition d'un pigment apparenté aux lipofuscines. Il est possible qu'il provienne de l'oxydation des phospholipides libérés par la lyse des crêtes. Ultérieurement, on assiste à une convergence avec les globules normaux de la cellule par condensation.



SCHEMA n° 9. — Reconstitution de l'évolution mitochondriale au cours de l'élimination des produits de la phagocytose de spermatoctyes d'*Ascaris*.

La mitochondrie normale (a) voit ses crêtes se multiplier (b), le phénomène devient anarchique (c), tandis que la mitochondrie se dilate. Puis les crêtes sont remplacées par des lames et des amas phospholipidiques (d). Ces derniers subsistent seuls dans le stade ultérieur (e).

Il semble donc que, dans le cas des tubes de Malpighi, les globules puissent être le résultat d'une involution de mitochondries. Cette involution, liée à l'élimination des protéines, se fait suivant des modalités variables. Le globule, tel qu'on l'observe dans la cellule normale, est le résultat de tous ces processus de résorption convergents intéressant les mitochondries et peut-être d'autres constituants cellulaires. En particulier, il n'est pas impossible que la pinocytose ait, elle aussi, pour résultat de telles formations, mais cela paraît exceptionnel.

Par conséquent et jusqu'à ce que l'on puisse caractériser avec certitude dans ces globules les systèmes des hydrolases spécifiques des lysosomes, nous ne pouvons homologuer à ceux-ci les globules des tubes de Malpighi. En effet, ESSNER et NOVIKOFF (1960), NOVIKOFF (1960 c) caractérisent morphologiquement les lysosomes par l'existence de simples membranes

et par l'intervention de la seule pinocytose dans leur formation, or les globules des tubes de Malpighi, chez le Grillon tout au moins, présentent longtemps une double membrane et la pinocytose n'a probablement qu'un rôle restreint dans leur formation. D'autre part, si l'injection de protéines provoque leur prolifération, nous n'avons pu mettre en évidence avec certitude le passage de ces protéines dans les globules. Or ce passage est incontestable dans le cas du rein (OLIVER et coll., 1954 ; STRAUS et OLIVER, 1955) malgré les résultats négatifs de MAYERSBACH et PEARSE (1956). Il faudrait reprendre cette étude en utilisant la méthode élégante aux peroxydases de STRAUS (1959) ou à la phosphatase alcaline (NOVIKOFF, 1960 *b*).

De toute façon, l'étude de ces structures ne fait que commencer et il serait prématuré de tirer des conclusions trop générales sur les tubes de Malpighi à propos desquels on ne possède que de trop rares informations.

Nous pensons cependant que trop de caractères rapprochent les globules du rein et des tubes de Malpighi pour qu'ils n'aient pas un fonctionnement analogue.

B. — LA FORMATION DES UROSPHÉRITES.

Celle-ci comprend deux phases successives. La première est leur genèse dans la cellule, la seconde consiste dans leur accroissement dans la lumière du tube.

Ces urosphérites se forment dans des vacuoles spéciales qu'illustrent les figures 5 et 6 notamment et que nous appelons des vacuoles à concrétion. Ces vacuoles sont relativement difficiles à caractériser dans la mesure où ce sont des vésicules à paroi simple, plus ou moins ondulée, sans particularité notable. Elles ressemblent beaucoup aux *microbodies* décrits par RHODIN (1954).

Les divers stades du dépôt de ces urosphérites sont illustrés par la planche XVI.

La première phase de la différenciation est marquée par l'apparition de la première couche sombre périphérique, c'est-à-dire de la première couche calcique.

De nouvelles strates apparaissent ensuite, soit au contact immédiat de la paroi de la vacuole, soit au sein des couches calciques les plus externes semble-t-il. Leur nombre est limité : en effet, dans les grains les plus gros, on n'en trouve au maximum que deux à trois principales suivies vers l'extérieur de quelques couches réduites. Les figures 34 et 35 représentent un aspect classique de ces urosphérites.

Dans une région de la cellule, les urosphérites présentent en général des séries absolument identiques de couches, ce qui indique l'intervention de phénomènes communs à toute cette région de la cellule. Les urosphérites, une fois parvenus à ce stade, sont éliminés dans la lumière. On assiste alors à un nouvel accroissement suivant un mode différent.

Comme le montre la planche XVII, la taille des urosphérîtes augmente après leur passage dans la lumière, ce qui signifie qu'un dépôt supplémentaire a lieu et, de plus, on constate que, dans les plus gros, la proportion des couches calciques diminue beaucoup, cependant que les couches claires augmentent d'épaisseur. Nous le constatons aussi bien à l'aide des réactions histochimiques que sur les micrographies électroniques. L'acide urique devient prédominant, il est dès lors beaucoup plus facile à caractériser ; les urosphérîtes méritent à ce moment pleinement leur nom.

Cependant, quelques autres sphérocristaux s'homogénéisent et les couches concentriques disparaissent, ce sont alors les couches calciques qui s'accroissent aux dépens des couches claires. Ceci s'observe également dans les réactions histochimiques révélant le calcium (fig. 41) et sur les coupes examinées au microscope électronique (fig. 24). Nous ne connaissons pas la signification de ce phénomène.

L'accroissement des couches claires d'acide urique correspond à un engraissement des cristaux préexistants. En effet, et comme le montre la figure 44, les couches initiales se retrouvent, mais les cristaux formant ces couches deviennent beaucoup plus visibles que dans les cellules, leurs dimensions augmentent.

Cet accroissement est dû, sans aucun doute, à un phénomène analogue à celui décrit par WIGGLESWORTH (1931) ; les bases alcalines sont résorbées tandis que l'acide urique précipite.

Nous avons essayé d'évaluer la durée de formation des urosphérîtes intracellulaires. En examinant quelques tubes de Malpighi d'un même animal à divers moments après une épuration générale des cellules, nous avons constaté que la charge cellulaire redevenait normale après vingt-quatre à trente-six heures. Mais cette méthode présente un défaut : en effet, l'animal, soumis à des opérations répétées donc à des pertes d'hémolymphe, n'était pas dans des conditions tout à fait normales.

Avec les injections de peptonate de fer, nous obtenons des résultats équivalents tandis qu'après une injection de plasma d'*Ascaris*, nous obtenons une durée de l'ordre de dix-huit à vingt-quatre heures. Il faut cependant remarquer que ces délais sont très approximatifs et varient beaucoup suivant les cas.

Il nous reste à préciser la part des deux phases dans l'élaboration des urosphérîtes définitifs. Dans l'animal normal, le dépôt intracellulaire représente une fraction relativement importante du dépôt total. Mais, après une injection de protéines massive, cette fraction baisse beaucoup. Les urosphérîtes passent dans la lumière au bout de vingt-quatre heures environ et s'accroissent considérablement, le dépôt dans la lumière devient alors prépondérant.

Nous avons pu vérifier que c'était bien dans les vacuoles à concrétion que se faisait le dépôt des sphérocristaux. Nous constaterons tout d'abord que, dans le tube embryonnaire et dans le segment distal du tube où ces vacuoles sont absentes, aucun urosphérîte ne se forme. D'autre part, nous avons vu qu'après une injection de peptonate de fer, toutes les vacuoles à concrétion

sont opaques, puis des cristaux radiés clairs se développent à la surface et dans la périphérie de la masse homogène.

Indépendamment de toute interprétation de ce phénomène, nous pouvons voir la formation des cristaux dans ces vacuoles grâce à une image négative et un marquage préalable de ces formations. Cette expérience montre d'ailleurs autre chose. En effet, on observe qu'à côté des urosphérîtes en cours de dépôt existent d'autres urosphérîtes manifestement plus anciens. Plusieurs étapes sont donc possibles dans la mise en charge cellulaire et l'élimination des urosphérîtes ne suit pas obligatoirement leur formation.

Il faudrait cependant, pour confirmer nos conclusions quant au fonctionnement des vacuoles à concrétion, que l'on possède des données supplémentaires sur les lithiases rénales humaines, notamment sur les lithiases uriques qui n'ont jamais été étudiées en microscopie électronique à notre connaissance. En effet, nous avons vu que les urosphérîtes étaient en réalité des formations complexes comprenant probablement plusieurs sels en couches successives. Ce phénomène est tout à fait comparable à ce que l'on trouve dans les lithiases rénales humaines (MARCHAND, 1956). Or ENGFELDT et ses collaborateurs ont montré (1958) que, dans les lithiases liées à un hyperparathyroïdisme, les *microbodies* deviennent particulièrement nombreux dans les cellules tubulaires du rein. Dans ces lithiases, comme dans l'excrétion normale du Grillon, la précipitation commence dans la cellule pour se prolonger dans la lumière du tube.

Les cellules tubulaires du rein fonctionneraient peut-être alors de façon identique à celles des tubes de Malpighi du Grillon et les *microbodies* y joueraient un rôle analogue à celui des vacuoles à concrétion. Nous écartons en effet l'hypothèse émise par ENGFELDT qui voit dans la multiplication des *microbodies* un phénomène de régénération mitochondriale.

L'origine de ces vacuoles à concrétion est probablement la même que celle des *microbodies* du rein, mais elle est inconnue. Tout au plus peut-on remarquer que l'on a beaucoup d'intermédiaires entre ces vacuoles et les petites structures hydrophiles. On pourrait aussi penser à une dilatation des vésicules issues de la fragmentation des cytomembranes, structures hydrophiles et vacuoles à concrétion ayant alors une origine commune dans les phénomènes de pinocytose. Mais il nous faut encore une fois noter que la simplicité extrême de ces structures rend leur identification difficile.

On peut enfin se demander quels sont les rapports entre les vacuoles à concrétion et les globules. En effet, ces deux formations ont une évolution fréquemment parallèle. Comme nous l'avons vu, les globules sont probablement des lysosomes; et, comme on trouve une accumulation de protéines dans les vacuoles à concrétion dans certaines conditions, il est fort probable que l'on sera amené à y joindre aussi ces dernières. NOVIKOFF (1959 a) pense d'ailleurs que, dans le rein, les *microbodies* et les globules sont deux catégories différentes de lysosomes. Il serait intéressant, dans ce cas, de

comparer les vacuoles à concrétion et les particules à uricase (DE DUVE, 1959). Peut-être s'agit-il d'une structure analogue, mais qui est dépourvue d'uricase chez le Grillon et chez les Insectes à excrétion urique. En effet, TRUSZKOWSKY et CHAJKINOWNA (1935) ont constaté l'absence d'uricase dans les Blattes qui, comme nous le verrons, présentent les mêmes structures cellulaires que le Grillon.

CHAPITRE IV

LES ULTRASTRUCTURES AU COURS DE L'EXCRÉTION

Au cours de nos observations, nous avons pu constater l'existence de rapports certains entre les modifications des ultrastructures et les phénomènes de l'excrétion.

Nous envisagerons tout d'abord ces rapports, puis nous tenterons d'opérer une reconstitution du fonctionnement cellulaire.

De telles études sont plus aisées ici que dans le rein, où elles n'ont pu donner encore de résultats, car l'observation des cellules vivantes y est beaucoup plus facile et certains produits d'excrétion y sont figurés.

1° Les cytomembranes

1° Les cytomembranes dans les cellules chargées. — Comme nous l'avons vu, les cytomembranes peuvent être entières ou perforées et délimiter des compartiments périphériques ouverts ou fermés vers le centre cellulaire.

On constate que, dans les cellules contenant de nombreux urosphérîtes en début de dépôt, l'ampleur du système de cytomembranes est maximum. Dans les cellules où les urosphérîtes ont atteint leur taille maximum, les cytomembranes ont pratiquement le même développement, mais les perforations sont beaucoup plus fréquentes et les compartiments plus souvent ouverts.

L'ampleur des cytomembranes est cependant légèrement variable dans les cellules présentant des urosphérîtes. Il y a probablement des régressions temporaires au cours du dépôt. Nous n'avons pu établir si ces régressions correspondaient au dépôt des différentes couches des urosphérîtes, aux séries successives d'urosphérîtes, ou si elles n'avaient aucun rapport avec ces phénomènes.

2° Les cytomembranes dans la cellule épurée. — Les cellules épurées, surtout celles de la région distale du tube moyen comme celle illustrée par les figures 57 et 60, possèdent un système de cytomembranes bien différent.

Ces cytomembranes sont, en effet, beaucoup moins nombreuses et beaucoup plus simples que dans la cellule chargée. Elles sont entières et non perforées. Parmi les cellules en début de charge dans un tube de Malpighi, on trouve souvent des cellules sans urosphérîtes, mais dont les cytomembranes

sont déjà abondantes. Nous pensons donc que leur développement précède celui des urosphérites.

Dans la partie proximale du tube moyen, la réduction des cytomembranes est moins accusée.

3° Les cytomembranes dans les cellules à gradient de charge. — La relation entre la charge en urosphérites et le développement des cytomem-

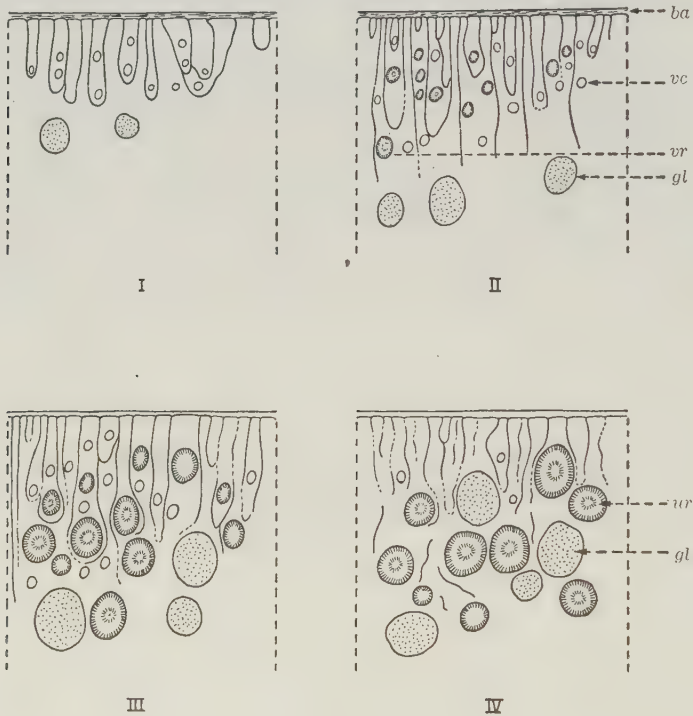


SCHÉMA n° 10. — *Reconstitution du cycle histophysiologique des cellules du tube de Malpighi moyen du Grillon.*

Seule la basale indiquant l'extérieur du tube, les cytomembranes (*cm*), les urosphérites (*ur*), les globules (*gl*) et les vacuoles à concrétion (*vc*) sont représentés.

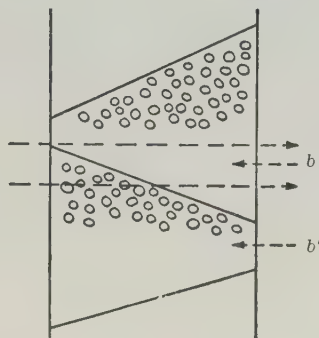
branes s'observe parfois dans une même cellule. En effet, souvent des tubes présentent, comme celui de la figure 58, des cellules curieuses. Celles-ci montrent deux parties distinctes : la moitié distale de la cellule est chargée de granulations tandis que la moitié proximale en est dépourvue. Aucune cloison ne sépare les deux moitiés de la cellule et le passage de l'une à l'autre tout en étant rapide n'en est pas moins continu. Nous avons là un gradient de charge cellulaire.

Or, à l'examen au microscope électronique (fig. 61 et 62), on constate que, dans la portion sans urosphérites, les cytomembranes sont entières et plutôt réduites. Dans la partie chargée, au contraire, elles sont dévelop-

pées, souvent très perforées et même disloquées et les membranes flexueuses sont extrêmement abondantes. L'observation simultanée de la partie chargée d'une cellule et de la partie épurée de la cellule voisine est rendue possible par la disposition des cellules dans la paroi du tube (schéma 11).

SCHÉMA n° 11. — *Cellules à gradient de charge.*

La forme et la disposition de ces cellules expliquent que l'on puisse avoir dans une même coupe transversale (aa') la partie épurée (b) d'une cellule et la partie chargée (b') de la cellule voisine.



2° Les membranes flexueuses et les structures hydrophiles.

Dans les cellules où les urosphérîtes sont présents et les cytomembranes développées, ces deux formations sont périphériques et ne se retrouvent qu'entre les cytomembranes.

Dans les cellules épurées à cytomembranes réduites, on constate que les structures hydrophiles sont libres dans tout le cytoplasme, que les membranes flexueuses sont rares et ne se trouvent que dans les compartiments périphériques ou dispersées dans le cytoplasme. Dans les cellules en cours d'épuration massive, les membranes flexueuses sont très nombreuses et se trouvent encore en place alors que les cytomembranes sont disloquées.

Ces membranes et les structures hydrophiles, maintenues dans la région basale de la cellule par le système de cytomembranes sont libérées dans le cytoplasme central par la régression et la destruction de ce système.

3° La bordure interne.

La structure de la bordure interne est relativement plus constante. Toutefois, on constate une transformation de celle-ci en véritable bordure en brosse dans deux cas : lorsque la pression osmotique du milieu intérieur est trop basse et qu'un transit d'eau intense en résulte, et dans certaines cellules apparemment au repos.

Mais, dans les deux cas, l'aspect n'est pas le même. Dans le premier, les digitations diffèrent en réalité peu des digitations de la bordure interne normale, elles contiennent en particulier des mitochondries. Au contraire, dans le second cas, elles deviennent très fines ; les mitochondries se retirent dans le cytoplasme, la bordure interne a pris l'aspect que l'on

observe dans le segment proximal du tube, son fonctionnement doit être modifié.

La transformation de la bordure normale en bordure en brosse s'observe dans les tubes isolés vivants après l'élimination des urosphériles. Il n'est cependant pas certain que ce soit toujours le cas dans l'animal intact comme nous l'avions supposé précédemment (BERKALOFF, 1959 *a*).

CHAPITRE V

LE CYCLE DE FONCTIONNEMENT CELLULAIRE

Nos observations nous permettent de reconstituer approximativement les transformations morphologiques de la cellule en fonction de la charge et par conséquent de tracer le cycle histophysiologique du tube de Malpighi.

L'étude de la différenciation cellulaire indique que le développement des cytomembranes en est la première étape. Nous retrouvons un phénomène analogue dans le début du cycle : les cytomembranes ont une ampleur croissante tandis que leur nombre augmente.

Dans la cellule épurée, nous l'avons vu, les cytomembranes sont réduites et les compartiments qu'elles délimitent sont clos. Ceci est dû au fait que les digitations de la périphérie sont, dans ce cas, engagées dans la cellule voisine. La cellule ne développe qu'un petit nombre de ces digitations.

Puis, quand l'activité reprend, le nombre des digitations augmente et il devient rapidement tel qu'elles se développent à la surface de la cellule elle-même. Le nombre de compartiments ouverts augmente aussi, les ouvertures correspondant à la base des digitations.

A ce stade, il devient particulièrement ardu de définir ce qui appartient à une cellule et à ses voisines étant donné que des perforations viennent encore compliquer la disposition des membranes.

Durant ce développement et surtout vers la fin se forment les urosphériles dans les vacuoles à concrétion. Le dépôt de l'acide urique et des autres sels s'effectue suivant un rythme irrégulier où l'influence des facteurs externes doit être importante. La formation d'un urosphérile dure en moyenne de vingt-quatre à trente-six heures. Aux premiers formés viennent s'en ajouter d'autres qui se déposent dans de nouvelles vacuoles à concrétion.

Durant ce dépôt, il est vraisemblable que les cytomembranes se renouvellent continuellement, car les perforations sont nombreuses ainsi que les fragments de membranes libérés dans le cytoplasme. Les membranes flexueuses augmentent en nombre, leur formation étant liée à l'existence des perforations. Les structures hydrophiles se multiplient de même.

Des régressions temporaires des cytomembranes sont très probables durant ce dépôt des couches successives des urosphériles, ces régressions étant peut-être consécutives au dépôt de chaque couche ou à la formation d'une série d'urosphériles.

La décharge de la cellule et le passage des urosphériles dans la lumière

commence assez tôt durant l'accumulation, puis s'accélère rapidement. La phase terminale de l'épuration est précédée et accompagnée d'une transformation généralisée des cytomembranes qui, à la suite de nombreuses perforations, se disloquent et dérivent dans toute la cellule où elles se résorbent.

Ce passage des urosphérites dans la lumière peut être observé dans les tubes vivants (fig. 57) et sur les coupes examinées au microscope électronique (fig. 12). La traversée de la bordure interne dure environ quatre à cinq minutes à une température de 27° C. Elle se fait par l'intermédiaire du système de canalicules que nous avons décrit dans les digitations. Ces canalicules conduisent les urosphérites du cytoplasme vers l'extrémité de la digitation à travers la zone fibrillaire. La fixation au permanganate, qui conserve bien les urosphérites, montre parfaitement ceux-ci à l'intérieur des digitations artificiellement séparées.

Ils sont éliminés avec l'extrémité de la digitation. Un tel processus avait d'ailleurs été vu par BUGAJEW (1928) chez d'autres Insectes. Il est probable qu'il est valable pour d'autres inclusions et les images données par WIGGLESWORTH de l'excrétion de bilirubine par *Rhodnius* (1943) le suggèrent fortement. Les urosphérites éliminés dans la lumière se transforment et grossissent par apport d'acide urique sous forme soluble (urates alcalins notamment) qui engraisse les cristaux préexistants suivant le schéma de WIGGLESWORTH (1931).

La cellule épurée possède alors ses caractéristiques principales : les cytomembranes sont plus réduites, les compartiments périphériques clos, les mitochondries plus rares.

Ces variations dans les structures cellulaires et le cycle qu'elles décrivent sont d'autant plus marquées que l'on se rapproche de l'extrémité distale du segment moyen, elles ont lieu dans les cellules les plus tardivement différenciées du tube.

Les cellules à gradient de charge (fig. 61 et 62) traduisent un décalage dans l'élimination des produits d'excrétion entre la partie distale et la partie proximale de la cellule. Il s'agit là d'un phénomène curieux qui est surtout visible dans la moitié distale du même segment moyen, donc dans les mêmes cellules où s'observent les plus grandes variations des cytomembranes.

La réabsorption des bases est effectuée probablement par les cellules épurées. En effet, celles-ci se rapprochent par leurs caractéristiques cellulaires des cellules du segment proximal du tube qui possèdent comme elles des cytomembranes réduites et relativement peu de mitochondries. Or ces dernières sont sans aucun doute réabsorbantes.

L'excrétion se présente donc chez le Grillon comme une lithiase chronique qui se développe non seulement dans la lumière des tubes de Malpighi, mais encore dans les cellules elles-mêmes. Cette lithiase est ici un phénomène tout à fait normal. L'accumulation de concrétions intracellulaires entraîne probablement une altération du métabolisme qui provoque des modifications cycliques des structures absorbantes de la cellule.

CHAPITRE VI

LES CELLULES DES TUBES DE MALPIGHI DE LA LARVE D'ÆSCHNE

La larve d'Æschne nous montre un type de tubes de Malpighi entièrement différent de celui du Grillon ; ici, l'ammoniaque constitue l'essentiel de l'azote excrété (STADDON, 1959). Or on constate que la structure cellulaire de ces tubes s'éloigne beaucoup de celle existant chez le Grillon, comme le montre la planche XXV.

Les tubes de Malpighi, très nombreux, sont divisés en plusieurs segments qui ont été décrits par GAGNEPAIN (1957). On distingue un segment proximal qui constitue le segment muqueux, un segment intermédiaire, un segment moyen qui est de loin le plus important et enfin un segment distal indifférencié.

Le segment indifférencié est apparemment analogue à celui du Grillon. Il comprend parfois des cellules sans cytomembranes et sans bordure en brosse. Mises à part ces dernières, les cellules embryonnaires des deux Insectes se ressemblent beaucoup.

Au contraire, le segment moyen présente des différences notables avec celui du Grillon. Ce segment moyen et le segment intermédiaire qui lui fait suite ont à peu près la même structure : on distingue dans les cellules une zone basale pourvue d'un système de cytomembranes entre lesquelles se trouvent des mitochondries. Ce système est particulier ; en effet, comme le montre la figure 63, les membranes y sont toujours entières et forment exclusivement des compartiments périphériques clos. Leur développement est en moyenne inférieur à celui trouvé dans le segment moyen du Grillon et leur aspect correspond à celui observé dans les premiers stades de la différenciation du tube embryonnaire de ce dernier.

L'absence de perforations est à mettre en parallèle avec la stabilité apparente de ce système de cytomembranes. En effet, à un niveau donné du tube, le développement de ce système semble à peu près constant. Son ampleur augmente au fur et à mesure que l'on descend le long du segment moyen puis se réduit, de moitié environ, aussi bien en ce qui concerne le nombre des cytomembranes que leur développement quand on passe au segment intermédiaire.

Cette stabilité des cytomembranes à un niveau donné du tube est associée à l'absence de membranes flexueuses semblables à celles que nous avons observées chez le Grillon.

Le cytoplasme des cellules des tubes de Malpighi de la larve d'Æschne

présente par ailleurs une structure tout à fait particulière et différente de celle trouvée chez le Grillon. En effet, comme le montre la figure 64, il est encombré de vésicules de taille variable et pourvues de membranes simples. L'origine de ces formations nous est inconnue.

Par ailleurs, on trouve des vacuoles absolument équivalentes à celles des cellules tubulaires du rein des Vertébrés, tout au moins du point de vue morphologique. Nous avons vu que ces vacuoles étaient absentes chez le Grillon.

La bordure en brosse est, comme l'avait déjà noté GAGNEPAIN (1956), plus courte dans le segment intermédiaire que dans le segment moyen. Mais il semble que, dans les deux segments, elle garde le même aspect avec des bâtonnets rigides et bien séparés. Il s'agit d'une bordure en brosse typique. Seules quelques cellules nous ont montré des digitations anastomosées qui les rapprochaient de celles trouvées chez le Grillon. Nous ne savons pas s'il s'agit de cellules appartenant à un segment étroit du tube ou plus simplement d'un artefact dû à la fixation.

Comme chez le Grillon, les mitochondries pénètrent dans la bordure en brosse du segment moyen, mais sont pratiquement absentes dans celle du segment intermédiaire.

Enfin, en relation avec l'excrétion ammoniacale, on constate l'absence totale d'urosphérites, seuls quelques très rares sphérocristaux se trouvent de temps à autre dans les cellules. Celles-ci disposent de suffisamment d'eau pour éliminer non seulement les produits d'excrétion azotée, mais aussi les autres sels qui constituaient les urosphérites, sous forme soluble.

La stabilité des cytomembranes et l'absence apparente de cycle dans le fonctionnement cellulaire sont liées vraisemblablement à l'absence de concrétions intracellulaires. L'accumulation des urosphérites provoque en effet des modifications du métabolisme entraînant des transformations morphologiques, comme nous l'avons vu chez le Grillon. Chez la larve d'*Æschne*, au contraire, l'excrétion porte exclusivement sur des substances dissoutes et aucun cycle ne se manifeste du point de vue morphologique ; le fonctionnement est continu. Toutefois, les repères morphologiques observés chez le Grillon (charge en urosphérites notamment) étant absents, l'interprétation des structures est difficile et doit être effectuée avec prudence.

Le transit intense de liquide nécessité par l'élimination de l'ammoniaque et facilité par la vie aquatique des larves d'Odonates se traduit dans les cellules par la présence de très nombreuses vésicules. Celles-ci sont, en effet, absentes chez les animaux à excrétion urique que nous avons pu étudier.

Il est remarquable que le débit d'eau considérable ne soit pas accompagné par un développement plus grand des cytomembranes. Nous avons d'ailleurs vu que l'existence de ces cytomembranes n'impliquait pas toujours celle d'un transit d'eau puisque nous les trouvons dans le segment terminal du tube de Malpighi du Grillon où aucune excrétion de liquide ne semble avoir lieu. Le débit de liquide transféré par la cellule du milieu intérieur vers la lumière n'est donc pas lié de façon étroite à la surface offerte.

La présence de vacuoles semblables à celles décrites dans les tubes contournés du rein comme l'existence d'invaginations à la base de la bordure en brosse indiquent que les processus de pinocytose doivent être importants dans ces cellules contrairement à ce que nous observons chez le Grillon.

Ainsi, des sondages effectués parmi les Orthoptères, nous avons pu conclure à une grande uniformité des structures cellulaires liée à l'identité des produits et apparemment des phénomènes d'excrétion. Nous avons retrouvé une morphologie cellulaire très analogue chez des Insectes aussi bien proches qu'éloignés des Orthoptères du point de vue systématique comme les Termites et certains Hyménoptères qui possèdent comme eux une excrétion urique. Par contre, chez des Insectes dont l'excrétion paraît différente comme les Homoptères ou les larves de Libellules, les cellules excrétrices prennent un aspect différent.

Il semble donc que, s'il existe bien plusieurs types de tubes de Malpighi du point de vue de la morphologie cellulaire, ces types ne sont probablement pas très nombreux et que l'on doit retrouver des cellules très semblables chaque fois que le mode et le produit d'excrétion sont les mêmes.

CONCLUSIONS

L'étude des tubes de Malpighi du Grillon domestique, *Gryllus domesticus*, et de quelques autres Orthoptéroïdes, Blattoptéroïdes et Dermaptéroïdes, nous a montré que la morphologie des cellules excrétrices semblait homogène chez ces Insectes. Nous nous sommes attaché à leur étude chez le Grillon dans des conditions normales et expérimentales.

Les tubes de Malpighi normaux chez le Grillon.

Nous avons tout d'abord précisé les caractéristiques cellulaires des différents segments de l'appareil excréteur. Nous avons ainsi pu montrer que le segment distal reste partiellement indifférencié, tandis que le segment principal, le segment moyen, élabore les sphérocristaux qui constituent l'essentiel des excreta figurés. Le segment proximal et le collecteur constituent apparemment une région réabsorbante.

Chacun de ces segments ne comporte qu'une seule catégorie cellulaire, les mucocytes dispersés parmi les cellules banales étant étroitement apparentés à celles-ci.

Les cellules des tubes de Malpighi semblent très proches morphologiquement des autres cellules excrétrices et notamment des cellules des tubes contournés du rein des Vertébrés. Elles possèdent, avec celles-ci, un certain nombre de structures communes.

Parmi celles-ci, les cytomembranes périphériques et la bordure interne étaient déjà partiellement connues. Nous y avons ajouté les globules qui correspondent aux gouttelettes de résorption protéique observées dans le rein et que l'on retrouve dans les autres organes excréteurs.

Chez le Grillon et chez les autres Insectes étudiés, l'excrétion peut être considérée comme une lithiase chronique. En effet, des concrétions complexes en forme de sphérocristaux à zonation concentrique contenant de l'acide urique et des sels, notamment de calcium, se déposent dans la cellule. Après un temps d'accroissement intracellulaire, ces sphérocristaux sont éliminés dans la lumière où ils se développent considérablement par engraissement des cristaux préexistants et forment les urosphérites classiques. On peut donc étendre cette dénomination d'urosphérite aux sphérocristaux intracellulaires dont ils dérivent.

Ceux-ci se forment dans des vacuoles, que nous avons nommées vacuoles à concrétion et que nous rapprochons, en nous fondant exclusivement sur des critères morphologiques, des *microbodies* du rein. L'étude de ce

dépôt peut être faite à l'aide d'injections de protéines marquées au fer. Le développement des urosphérîtes est synchrone dans une partie de la cellule et les séries de couches observées sont identiques, ce qui traduit l'intervention de phénomènes extérieurs aux vacuoles, phénomènes qui sont vraisemblablement en rapport avec les modifications fréquentes des cytomembranes.

Les cytomembranes, en effet, contrairement à ce que l'on admet pour le rein, ne semblent pas constituer un système stable, mais subissent des variations en amplitude et en nombre. D'autre part, on constate qu'elles se renouvellent continuellement et notamment se résorbent en donnant des membranes accessoires que nous avons appelées membranes flexueuses. Celles-ci sont inconnues dans le rein et leur présence traduit une nouvelle différence dans la morphologie et probablement dans le fonctionnement des cytomembranes.

Ces variations, ainsi que ce renouvellement constant des cytomembranes, ne s'observent que dans le segment moyen du tube. Ces modifications continues du système absorbant périphérique ont surtout lieu durant la phase active de l'accumulation des urosphérîtes intracellulaires, elles portent sur des cytomembranes très nombreuses et très développées.

Dans les cellules épurées, surtout dans celles situées dans la moitié distale du segment moyen, les cytomembranes sont beaucoup plus réduites et semblent plus stables.

Nous observons donc une alternance de phases où la cellule possède des cytomembranes réduites (il s'agit alors de cellules épurées) et de phases où elle possède un système beaucoup plus développé (et il s'agit de cellules se chargeant en urosphérîtes). Le développement des cytomembranes semble d'ailleurs précéder le début du dépôt.

L'élimination des produits d'excrétion figurés s'effectue par l'extrémité des digitations de la bordure interne, qui n'est pas en fait une vraie bordure en brosse. Ces produits d'excrétion figurés sont guidés par un système de canalicules prenant racine dans le cytoplasme au delà de la zone fibrillaire qui limite la bordure interne vers la cellule. Après cette élimination, la cellule épurée garde son aspect durant un temps plus ou moins long, puis reprend son aspect primitif.

Il s'agit donc d'un fonctionnement cyclique ; le cycle comprend une phase d'accumulation des urosphérîtes, leur élimination et enfin, vraisemblablement, une réabsorption d'eau en même temps qu'un apport supplémentaire de sels. Ce caractère fait de ces cellules des cellules excrétrices particulières qui s'opposent, par exemple, à celles d'autres Insectes comme la larve d'*Æschne*.

Étude expérimentale.

Ces cellules, mises en présence de milieux anormaux, donnent souvent lieu à des modifications morphologiques ; nous en avons étudié quelques-unes.

Les cellules réagissent à un milieu hypotonique en développant de nombreuses vacuoles qui sont normalement absentes et qui se développent dans des formations préexistantes : les structures hydrophiles. Celles-ci représentent des formations curieuses sans équivalent connu dans les autres cellules excrétrices. Elles servent directement à l'excrétion de l'eau (certaines sont éliminées dans les digitations de la bordure interne, alors typiquement en brosse), mais aussi à l'accumulation de cette eau qui est ensuite excrétée progressivement par la cellule (en effet, le passage des structures hydrophiles aux vacuoles est réversible).

La physiologie de la cellule est alors probablement très perturbée, car les mitochondries présentent tous les caractères de la tuméfaction trouble et les cytomembranes se transforment ; néanmoins le phénomène est réversible. Nous avons comparé ces résultats ainsi obtenus avec ceux d'autres auteurs à propos du rein. Les modifications de la morphologie cellulaire sont très semblables pour un circuit inverse de l'eau.

De même, nous avons comparé l'action des injections de protéines sur la cellule des tubes de Malpighi et sur les cellules tubulaires du rein.

Dans le cas des tubes de Malpighi, l'injection de protéines provoque la formation d'urosphérites et de globules. Les globules sont d'origine probablement variée, mais surtout mitochondriale, contrairement à ce que l'on trouve dans le rein. Les globules se développent dans la cellule avant le passage de la protéine dans la lumière et ne peuvent donc pas être considérés uniquement comme le résultat d'une réabsorption de celle-ci à partir de la lumière. La protéine traverse la cellule essentiellement dans les vacuoles à concrétion.

Ces différences sont très certainement dues à l'absence dans les tubes de Malpighi d'un dispositif équivalent au glomérule du rein. La protéine doit traverser la cellule avant de passer dans la lumière.

Il semble d'ailleurs qu'à tous points de vue la ressemblance morphologique entre les cellules tubulaires du rein et celles des tubes de Malpighi soit assez superficielle.

Tubes de Malpighi à excrétion ammoniacale : la larve d'Æschne.

Nous avons, d'autre part, comparé les tubes de Malpighi du Grillon à ceux de la larve d'Æschne. Nous avons constaté qu'à deux types d'excrétion différents, unique dans le cas du Grillon, ammoniacale dans les cas de la larve d'Æschne, correspondent deux types cellulaires différents. Le fonctionnement semble cyclique dans le cas des urosphérites intracellulaires, tandis qu'il est continu, comme dans le rein, dans les tubes à excrétion ammoniacale.

*
* *

Il reste de nombreux points à éclaircir et à préciser à propos du fonctionnement des tubes de Malpighi du Grillon et à plus forte raison des autres Insectes. Il faudrait notamment compléter les données morphologiques que nous avons pu apporter par une étude biochimique et histo-chimique de ces structures, malheureusement peu visibles en microscopie optique. Les progrès à venir de la cytochimie en microscopie électronique permettront certainement de résoudre bien des problèmes qui restent posés pour le moment.

- *Laboratoire de microscopie électronique appliquée à la Biologie,*
C. N. R. S., 105, boulevard Raspail, Paris (6^e).
 - *Laboratoire de Botanique de l'École Normale Supérieure,* Paris.
 - *Laboratoire de Synthèse atomique et d'Optique protonique,*
C. N. R. S., Ivry.
-

BIBLIOGRAPHIE

1954. BAHR (C. F.). — Osmium tetroxyde and ruthenium tetroxyde and their reaction with histologically important substances (*Exp. Cell Res.*, **7**, 457-479).
1959. BARNES (B. G.) et DAVIES (J. M.). — The structure of nuclear pores in mammalian tissues (*J. Ultrastr. Res.*, **3**, 131-146).
1954. BARTLEY (W.) et DAVIES (R. E.). — Active transport by subcellular particles (*Bioch. J.*, **57**, 37-49).
1957. BEAMS (H. W.) et ANDERSON (E.). — Light and electron microscope studies on the striated border of the intestinal epithelial cells of the insects (*J. Morph.*, **100**, 601-619).
1955. BEAMS (H. W.), TAHMISIAN (T. N.) et DEVINE (R. L.). — Electron microscope studies of the malpighian tubules of the Grasshopper *Melanoplus differentialis* (Orthoptera Acrididæ) (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **1**, 197-202).
1956. BENNET (H. S.). — The concept of membrane flow and membrane vesiculation as mechanisms for active transport and ion pumping (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **2** suppl., 99-103).
- 1958 a. BERKALOFF (A.). — Les grains de sécrétion des tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus* (Orthoptère Gryllidæ) (*C. R. Ac. Sc. Paris*, **246**, 2807-2809). — 1958 b. L'ultrastructure des tubes de Malpighi et le problème de leur fonctionnement (*IV^e Congrès intern. de Microsc. electr.*, Berlin, 1959, 392-396). — 1959 a. Variations de l'ultrastructure des tubes de Malpighi et leur fonctionnement chez *Gryllus domesticus* (Orthoptère Gryllidæ) (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, **248**, 466-469). — 1959 b. Répartition de la phosphatase alcaline et des grains de sécrétion dans les tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus* (Orthoptère Gryllidæ) (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, **249**, 2120-2121). — 1959 c. Transformations mitochondriales et formation de pigment dans les tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus* (Orthoptère Gryllidæ) (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, **249**, 1934-1936). — 1960 a. Le glycogène des tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus* (Orthoptère Gryllidæ) (*C. R. Ac. Sc.*, **250**, 2061-2063). — 1960 b. Aspects morphologiques du transit de l'eau dans les tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus*. Étude d'une néphrose osmotique (*C. R. Ac. Sc.*, **250**, 2609-2611).
1957. BESSIS (M.) et BRETON-GORIUS (J.). — Accumulation de granules ferrugineux dans les mitochondries des érythroblastes (*C. R. Ac. Sc.*, **244**, 2846-2847).
1959. BHEEMESWAR (B.). Some aspects of aminoacid metabolism in insects (*Biochemistry of Insects*, édité par L. Levenbook, Pergamon Press London, 78-86).
1942. BONÉ (G.) et KOCH (H. J.). — Le rôle des tubes de Malpighi et du rectum dans la régulation ionique chez les Insectes (*Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, **73**, 73-87).
1894. BORDAS (L.). — Les tubes de Malpighi des Hyménoptères (*Bull. Sc. France-Belgique*, **26**, 402-437). — 1897. Les tubes de Malpighi des Orthoptères (*C. R. Ac. Sc.*, **124**, 46-48). — 1898. L'appareil digestif des Orthoptères (Morphologie, histologie et physiologie. Importance de cet organe pour la classification des Orthoptères) (*Ann. Sc. Nat. Zool.*, **5**, 1-208). — 1901. Insertion des tubes de Malpighi chez les Gryllidæ (*Bull. Soc. Ent. Fr.*, **15**, 227-228). — 1902. Structure des tubes de Malpighi, du réceptacle urinaire et du canal excréteur (urètre) des Gryllidæ (*Bull. Soc. Ent.*, **16**, 272-273). — 1911. L'appareil digestif et les tubes de Malpighi des larves de Lépidoptères (*Ann. Sc. Nat. Zool.*, **14**, 191-271).
1957. BRACHET (J.). — *Biochemical cytology*, Academic Press.
1936. BROWN (A. W. A.). — The excretion of ammonia and uric acid during the larval life of certain muscoid flies (*J. Exp. Biol.*, **13**, 131-139). — 1937. Studies on the

- excreta of a Grasshoper (*J. Exp. Biol.*, **14**, 87-94). — 1938. The nitrogen metabolism of an insect (*Lucilia sericata*). I. Uric acid, allantoin and uricase. II. Ammonia and other metabolites (*Bioch. J.*, **32**, 895-912).
1936. BROWN (A. W. A.) et FARBER (L.). On the deaminating enzyme of flesh fly larvæ (*Bioch. J.*, **30**, 1107-1118).
1815. BRUGNATELLI (M.). Osservazione sopra l'assurato d'ammoniaca (*Giornale de fisica*, **7**, 7-42).
1928. BUGAJEW (I. I.). — Zum Studien des Baues der Malpighischen Gefässe den Insekten (*Zool. Anz.*, **78**, 244-255).
1952. CAMERON (G. R.). — *Pathology of the cell*, Oliver and Boyd, London.
1960. CHAPPEL (J. B.) et GREVILLE (G. D.). — Mitochondrial swelling and electron transport. I. Swelling supported by ferricyanid (*Bioch. Bioph. Act.*, **38**, 483-494).
1941. CHAUVIN (R.). — Contribution à l'étude physiologique du Criquet pèlerin et du déterminisme des phénomènes grégaires (*Ann. Soc. Ent. Fr.*, **110**, 133-272). — 1956. *Physiologie de l'Insecte*, Publications de l'I. N. R. A., Paris. — 1958. Action du groupement sur la croissance des Grillons *Gryllus domesticus* (*J. Ins. Phys.*, **2**, 235-248).
1957. CLARK (S. L. Jr.). — Cellular differentiation in the kidneys of newborn mice studied with the electron microscope (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **3**, 349-359).
1957. COUPLAND (R. E.). — Observations on the normal histology and histochemistry of the fat body of the locust (*Schistocerca gregaria*) (*J. Exp. Biol.*, **34**, 290-296).
1960. CRAIG (R.). — The physiology of excretion in the Insect. (*Ann. Rev. Ent.*, **5**, 53-68).
1959. CROMARTIE (R. I. T.). — Insect pigments (*Ann. Rev. Ent.*, **4**, 59-75).
1895. CUÉNOT (L.). — Études physiologiques sur les Orthoptères (*Arch. Biol.*, **14**, 293-341).
1950. DALTON (A. J.), KÄHLER (H.), STRIEBICH (M. J.) et LLOYD (B.). — Finer structure of hepatic, intestinal and renal cells of the mouse as revealed by the electron microscope (*J. Nat. Canc. Inst.*, **11**, 439-461).
1953. DALTON (A. J.). — Electron microscopy of tissue sections (*Intern. Rev. Cyt.*, **2**, 403-418).
1927. DAVIES (A. C.). — Ciliated epithelia in the Insecta (*Ann. Ent. Soc. Am.*, **20**, 359-362).
1949. DAY (M. F.). — The distribution of alkaline phosphatase in Insects (*Austr. J. Sc. Res.*, **32**, 31-34).
1958. DAY (M. F.) et BRIGGS (M.). — The origin and structure of brochosomes (*J. Ultrast. Res.*, **2**, 239-244).
1927. DELAUNAY (H.). — Recherches biochimiques sur l'excrétion azotée des Invertébrés (*Thèse Fac. Sc.*, Paris). — 1931. L'excrétion azotée chez les Invertébrés (*Biol. Rev.*, **6**, 265-301).
1943. DRILHON (A.). — Sur la présence et l'activité des phosphatases chez les Insectes (*C. R. Soc. Biol.*, Paris, **137**, 390-391).
1945. DRILHON (A.) et BUSNEL (R. C.). — Recherches sur les phosphatases d'insectes et en particulier des tubes de Malpighi et du tube digestif (*Bull. Soc. Zool. Fr.*, **68**, 21-28).
1955. DUVE (C. de), PRESSMAN (B. C.), GIANETTO (R.), WATTIAUX (R.) et APPELMANS (F.). — Intracellular distribution of enzymes in Rat liver tissue (*Bioch. J.*, **60**, 604-617).
1958. DUVE (C. de). — Les lysosomes (*Exposés annuels de biochimie médicale*, Masson et C^{ie}, Paris). — 1959. Lysosomes : a new group of cytoplasmic particles (dans *Sub-cellular particles*, édité par T. Hayashi, Ronald Press, New York, 128-159).
1925. EASTHAM (L.). — Peristalsis in the malpighian tubules of Diptera. Preliminary account with a note on the elimination of calcium carbonate from the malpighian tubules of *Drosophila funebris* (*Quat. J. Micr. Sc.*, **69**, 385-398).
1914. EHRENBERG (R.). — Die Exkretion. Tracheaten (*Wintersteins Handbuch d. vergl. Physiol.*, **2**, 695-759).

1958. ENGFELDT (B.), GARDELL (S.), HELLSTROM (J.), IVEMARK (R.), RHODIN (J.) et STRAND (J.). — Effects of experimental hyperparathyroidism on renal function and structure (*Act. Endocr.*, **29**, 15-26).
- 1960 a. ESSNER (E.) et NOVIKOFF (A. B.). — Human hepatocellular pigments and lysosomes (*J. Ultrast. Res.*, **3**, 374-391). — 1960 b. Acid phosphatase activity in hepatic lysosomes : electron microscopic demonstration of its reaction product (*J. Histochem. Cytochem.*, à paraître).
- 1960 a. FARQUHAR (M. G.) et PALADE (G. E.). — Segregation of ferritin in glomerular protein absorption droplets (*J. Bioph. Biochem. Cyt.*, **7**, 297-304). — 1960 b. *J. Bioph. Biochem. Cyt.*, sous presse.
1911. FAUSSEK (V.). — Vergleichende embryologische Studien. Zur Frage über die Bedeutung der Cölohmöhlen (*Zeitsch. wiss. Zool.*, **98**, 529-625).
1958. FAYARD (P.) et CARASSO (N.). — Origine et ultrastructure des plaquettes vitellines de la Planorbe (*Arch. Anat. Microsc.*, **47**, 211-234).
- 1958 a. FAWCETT (D. W.). — The identification of particulate glycogen and ribonucleoprotein granules in electron microscopy (*J. Histochem. Cytochem.*, **6**, 94-96). — 1958 b. Specialization of the cell surface (dans *Frontiers in cytology*), édité par S. L. Palay, Yale University Press, 19-41).
1958. FAWCETT (D. W.) et SELBY (C. C.). — Observations on the fine structure of the turtle atrium (*J. Bioph. Biochem. Cyt.*, **4**, 63-72).
1935. FEYEL (P.). — Recherches cytophysiologiques sur le tube urinaire des Vertébrés et de quelques Invertébrés (*Thèse Fac. Sc. Paris*, Le François, éditeur).
1943. FLORKIN (M.) et DUCHATEAU (G.). — Les formes du système enzymatique de l'uricolyse et l'évolution du catabolisme purique chez les animaux (*Arch. Int. physiol.*, **53**, 267-307).
1958. FREDERIC (J.). — Recherches cytologiques sur le chondriome normal ou soumis à l'experimentation dans les cellules vivantes cultivées *in vitro* (*Thèse d'agrég. Enseign. sup.*, Université de Liège).
- 1956 a. GAGNEPAIN (J.). — Sur la présence d'un segment muqueux dans les tubes de Malpighi de quelques Odonates (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, **242**, 2777-2779). — 1956 b. Données cytologiques et histochimiques sur les tubes de Malpighi des Odonates (*Bull. Soc. Zool. Fr.*, **81**, 395-410).
1956. GANSLER (H.) et ROUILLER (C.). — Modifications physiologiques et pathologiques du chondriome. Étude au microscope électronique (*Schw. Z. Path. Bakt.*, **19**, 217-243).
1956. GARCIA (I.), TIXIER (M.) et ROCHE (J.). — Sur le métabolisme hydrolytique de l'arginine chez les insectes et sa signification biologique (*C. R. Soc. Biol.*, Paris, **150**, 632-634).
1958. GARCIA (I.), COUERBE (J.) et ROCHE (J.). — Sur la présence d'arginase chez les Sauterelles *Schistocerca gregaria* et *Eypreprocnemis plorans* (*C. R. Soc. Biol.*, **152**, 1646-1649).
1942. GERSH (M.). — Verteilung und Ausscheidung von fluoresceïn bei Aphiden Beitrag zur exkretion bei Insekten (*Zeitsch. Vergl. Physiol.*, **29**, 506-531).
1958. GLAUERT (A. M.) et GLAUERT (R. H.). — Araldite as an embedding medium for electron microscopy (*J. Bioph. Biochem. Cyt.*, **4**, 191-194).
1890. GRANDIS (V.). — Sur les modifications des épithéliums glandulaires durant la sécrétion (*Arch. Ital. Biol.*, **14**, 160-182).
1926. HAYMAN (E. M.) et RICHARDS (A. N.). — Deposition of dyes, iron and urea in the cells of a renal tubule after their injection into its lumen : glomerular elimination of the same substances (*Am. J. Physiol.*, **79**, 149-169).
1956. HINTON (T.). — The effects of arginine, ornithine and citrulline on the growth of *Drosophila* (*Arch. Biochem. Biophys.*, **62**, 78-85).
1925. HOLLANDE (A. C.). — Les cellules à urates des Acridiens et la genèse de ces urates (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, **181**, 1175-1176).
1957. HOLMBERG (A.). — Ultrastructural changes in the epithelium following inhibition of secretion of aqueous humour in the rabbit eye (*Thèse Karolinska Institutet*).

1959. HOLTER (H.). — Problems of pinocytosis, with special regard to amoebae (*Ann. New York Ac. Sc.*, **78**, 524-537).
1954. HOLTER (H.) et MARSHALL (J. M.). — Studies on pinocytosis in the amoeba *Chaos chaos* (*C. R. Tr. Lab. Carlsberg*, **29**, 7-26).
1959. JEZEQUEL (A. M.). — Dégénérescence myélinique des mitochondries de foie humain dans un épithélioma du cholédoque et un ictère viral. Étude au microscope électronique (*J. Ultrast. Res.*, **3**, 210-215).
1858. KÖLLIKER (A.). — Zur feinere Anatomie der Insekten (*Verhandl. Phys. Med. Gessellsch.*, Würzburg, **8**, 225-235).
1954. KRETCHMER (N.) et CHEROT (F. J.). — Cellular mechanisms of protein metabolism in the nephron. II. The intracellular partition and the incorporation into proteins of intravenously injected e-lysine (*J. Exp. Med.*, **99**, 637-641).
1954. KRETCHMER (N.) et DICKERMAN (H. W.). — Cellular mechanisms of protein metabolism in the nephron. I. The partition of succinoxidase and cytochrome oxydase activities in the cells of the proximal convolution of the Rat after intraperitoneal injection of eggwhite (*J. Exp. Med.*, **99**, 629-635).
1899. LÉCAILLON (A.). — Sur les prolongements ciliiformes de quelques cellules du Cousin adulte (*Culex pipiens* L.) (*Bull. Soc. Ent. Fr.*, 353-354).
1899. LÉGER (L.) et DUBOSQ (O.). — Sur les tubes de Malpighi des Grillons (*C. R. Soc. Biol.*, **93**, 527-529).
1935. LEIFERT (H.). — Untersuchungen über den Exkretstoffwechsel bei Eiern, Raupen und Puppen von *Antheraea Pernyi* (*Zool. Jahrb. Physiol.*, **55**, 131-190).
1931. LEWIS (W. H.). — Pinocytosis (*Bull. John Hopkins Hosp.*, **49**, 17-37).
1942. LINDSAY (E.) et CRAIG (R.). — The distribution of radiophosphorus in waxmoth, mealworm, cockroach and firebat (*Ann. Ent. Soc. Am.*, **35**, 50-56).
1938. LISON (L.). — Sur l'existence de gradients physiologiques dans les tubes de Malpighi chez quelques Orthoptères (*C. R. Soc. Biol.*, **127**, 366-368). — 1953. *Histo-chimie et cytochimie animales. Principes et méthodes*, Gauthiers-Villars, éditeur, Paris.
1956. LUFT (J. H.). — Permanganate, a new fixative for electron microscopy (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **2**, 799-802).
1938. MALÉUF (N. S. R.). — Physiology of excretion among the Arthropoda (*Physiol. Rev.*, **18**, 28-58).
1930. MANWARING (M.). — Hydrophagocytosis ; éditorial (*J. Am. Med. Ass.*, **95**, 1509).
1956. MAYERSBACH (H.) et PEARSE (A. G. E.). — The metabolism of fluorescent labelled and unlabelled eggwhite in the renal tubules of the mouse (*Brit. J. Exp. Path.*, **37**, 81-89).
1890. MARCHAL (P.). — L'acide urique et la fonction rénale chez les Invertébrés (*Mém. Soc. Zool. Fr.*, **3**, 31-87).
1956. MARCHAND (C.). — Application de la radiocristallographie à l'étude des lithiases (*Thèse Fac. Méd. Paris*).
1956. MARTOJA (R.). — Mise en évidence d'une sécrétion muqueuse dans les tubes de Malpighi de quelques Orthoptères et d'un Phasmoptère (*Bull. Soc. Zool. Fr.*, **81**, 172-173). — 1959. Données cytologiques et histochimiques sur les tubes de Malpighi et leur sécrétion muqueuse chez *Locusta migratoria* (*Act. Histochem.*, **6**, 185-217).
1956. MAXWELL (D. S.) et PEASE (D. C.). — The electron microscopy of the choroid plexus (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **2**, 467-474).
1959. MERCER (E. H.) et BRUNET (P. C.). — The electron microscopy of the left colle-terial gland of the cockroach (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **5**, 257-262).
1943. METCALF (R. L.). — The storage and interaction of watersoluble vitamins in the malpighian system of *Periplaneta americana* (*Arch. Biochem.*, **2**, 55-62).
1957. MEYER (G. F.). — Elektronmikroskopische Untersuchungen an den Malpighi Gefässen verschiedener Insekten (*Zeitsch. Zellforsch. mikr. Anat. Dtsch.*, **41**, 18-28).
1955. MILLER (F.) et SITTE (H.). — Elektronmikroskopische Untersuchungen an Mäusenieren nach intraperitonealen Eiweissgaben (*Verhandl. dtsh. Ges. Path.*, **39**, 587-596).

1959. MOLLENHAUER (H. H.). — Permanganate fixation of plant cells (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **6**, 427-435).
1929. NOEL (R.) et TAHIR (E.). — Études cytologiques des prolongements dits cili-formes des cellules de l'épithélium des tubes de Malpighi chez *Bombyx mori* (*Arch. Anat. Micr.*, **25**, 587-596).
- 1959 a. NOVIKOFF (A. B.). — Lysosomes and the physiology and pathology of the cell. (*Biol. Bull.*, **117**, 385). — 1959 b. The proximal tubule cell in experimental hydro-nephrosis (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **6**, 136-138). — 1960 a. Cold acetone fixation for enzymes localisation in frozen sections (*J. Histochem. Cytochem.*, **8**, 37-40). — 1960 b The lysosomes (dans *Cell systems and their control*, édité par D. Rudnick, Ronald Press, New York, à paraître). — 1960 c. The rat kidney : cytochemical and electron microscopic studies (dans *Biology of pyelonephritis*, édité par E. L. Quinn et E. H. Kass, Little, Brown and Co, New York, à paraître).
1956. NOVIKOFF (A. B.), BEAUFAY (H.) et DUVE (C. de). — Electron microscopy of lysosome rich fraction from rat liver (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **2**, 179-184).
1960. NOVIKOFF (A. B.), RUNLING (B.), DRUCKER (J.) et KAPLAN (S. E.). — Uptake of proteins and their intracellular fate : a cytochemical and electron microscopic studie (*J. Histochem. Cytochem.*, à paraître).
1954. OLIVER (J.), MAC DOWELL (M.) et LEE (Y. C.). — Cellular mechanisms of protein metabolism in the nephron. I. The structural aspects of proteinuria ; tubular absorption, droplet formation and the disposal of proteins (*J. Exp. Med.*, **99**, 589-603).
1954. OLIVER (J.) MOSES (M.), MAC DOWELL (M.) et LEE (Y. C.). — Cellular mechanisms of protein metabolism in the nephron. II. The histochemical characteristics of protein absorption droplets (*J. Exp. Med.*, **99**, 605-619).
1952. PALADE (G. E.). — A study of fixation for electron microscopy (*J. Exp. Med.*, **95**, 285-298). — 1959. Fonctionnal changes in the structure of cell components (dans *Subcellular particles*, édité par T. Hayashi, Ronald Press, New York, 64-83).
1939. PATTON (R. L.) et CRAIG (R.). — The rate of excretion of certain substances by the larvæ of the mealworm, *Tenebrio molitor* (*J. Exp. Zool.*, **81**, 437-457).
- 1955 a. PEASE (D. C.). — Electron microscopy of the vascular bed of the kidney cortex (*Anat. Rec.*, **121**, 701-721). — 1955 b. Electron microscopy of the tubular cell of the kidney cortex (*Anat. Rec.*, **121**, 723-743). — 1956 a. Fine structure of the kidney seen by the electron microscope (*J. Histochem. Cytochem.*, **3**, 295-301). — 1956 b. Infolded basal membranes found in epithelia noted for their water transport (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **2**, suppl., 203-208).
1874. PLATEAU (F.). — Travaux sur les phénomènes de la digestion chez les insectes (*Mem. Ac. Roy. Belg.*, **41**, 3-122).
1959. POLICARD (A.) et BESSIS (M.). — La pinocytose. Le phénomène de Lewis et son histoire (*Rev. Hémat.*, **14**, 487-495).
1959. POLICARD (A.) et COLLET (A.). — Les membranes basales et leur rôle dans la physiologie normale et pathologique des tissus (*Rev. Fr. Et. Chim. Biol.*, **4**, 283-289).
1957. POLICARD (A.), COLLET (A.) et PREGERMAIN (S.). — Sur quelques points de cytopathologie des néphrites toxiques étudiées au microscope électronique (*La presse méd.*, **65**, 1685-1688).
1957. PORTER (K. R.). — The submicroscopic morphology of protoplasm (dans *The Harvey Lectures*, Academic Press, New York, 175-228).
1958. PUCHTLER (H.) et LEBLOND (C. P.). — Histochemical analysis of cell membranes and associated structures as seen in the intestinal epithelium (*Am. J. Anat.*, **102**, 1-31).
1950. RAMSAY (J.-A.). — Osmotic regulation in mosquito larvæ (*J. Exp. Biol.*, **27**, 145-157). — 1951. Osmotic regulation in mosquito larvæ : the role of malpighian tubules (*J. Exp. Biol.*, **28**, 62-73). — 1952. The excretion of sodium and potassium by the malpighian tubules of *Rhodnius* (*J. exp. Biol.*, **29**, 120-126). — 1953. Active transport of potassium by malpighian tubules of insects (*J. Exp. Biol.*, **30**, 358-369). — 1954. Active transport of water by the malpighian tubules of the stick insect *Dixippus morosus* (*J. Exp. Biol.*, **31**, 104-113). — 1955. The excretion of sodium,

- potassium and water by the malpighian tubules of the stick insect *Dixippus morosus* (*J. Exp. Biol.*, **32**, 183-216). — 1956. Excretion by the malpighian tubules of the stick insect, *Dixippus morosus*. Calcium, magnesium, chloride, phosphate and hydrogen ions (*J. Exp. Biol.*, **33**, 697-708). — 1958. Excretion by the malpighian tubules of the stick insect, *Dixippus morosus*. Aminoacids, sugar and urea (*J. Exp. Biol.*, **35**, 871-891).
1954. RHODIN (J.). — Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally changed proximal tubule cells of the mouse kidney (*Aktiebolaget Godvil*, Stockholm). — 1956. Ergebnisse der elektronenmikroskopische Erforschung von Struktur und Funktion der Zelle (*Verhandl. deutsch. Gesellsch. Path.*, 41^o Tag., **18**, 275-284). — 1958 a. Anatomy of kidney tubules (*Intern. Rev. Cyt.*, **7**, 485-534). — 1958 b. Electronmicroscopy of the kidney (*Am. J. Med.*, **24**, 661-675). — 1959 a. Microscopie électronique du rein (*Bruxelles médical*, **12**, 409-426). — 1959 b. Fine structure of mammalian renal tubules (dans *Proceedings of the 10th annual conference on the nephrotic syndrome*, édité par J. Metcoff, 30-57).
1954. ROUILLER (C.). — Les canalicules biliaires. Étude au microscope électronique (*C. R. Soc. Biol.*, **148**, 2008-2011). — 1956. Les canalicules biliaires. Étude au microscope électronique (*Act. Anat.*, **26**, 94-109).
1956. ROUILLER (C.) et GANSLER (H.). — Les modifications des mitochondries du foie et du rein chez le rat à jeun et réalimenté (*Symp. on fine structure of cells*, Leyde, 82-85).
1956. ROUILLER (C.) et BERNHARD (W.). — « Microbodies » and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **2**, suppl., 355-359).
1958. ROUILLER (C.) et MODJABATAI (A.). — La néphrose expérimentale du lapin. Comparaison entre la microscopie optique et électronique. Les modifications des cellules à bordure striée (*Ann. Anat. Path.*, **3**, 223-250).
1956. RUDZINSKA (M. A.). — Further observations on the fine structure of the macronucleus in *Tokophrya infusionum* (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **2**, suppl., 425-427).
1955. RUDZINSKA (M. A.) et PORTER (K. R.). — Observations on the fine structure of the macronucleus of *Tokophrya infusionum* (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **1**, 421-428).
1958. SILVA-SASSO (dw), MARQUES DE CASTRO (N.) et PONTES-PACHECO (I.). — Histochemical study of the pigment found in the epithelium of the kidney of *Phyllodryas Schotti* (*J. Histochem. Cytochem.*, **4**, 233-236).
1927. SAINT-HILAIRE (K.). — Vergleichende Anatomie der Malpighischen Gefässe der Insekten (*Zool. Anz.*, **73**, 218-229).
1878. SCHINDLER (E.). — Beiträge zur Kenntniss der Malpighischen Gefässe der Insekten (*Zeitsch. Wiss. Zool.*, **30**, 587-660).
1958. SCHULTZ (H.). — Die submikroskopische Pathologie der Cytosomen in den alveolar Makrophagen der Lunge (*Beitr. Path. Anat.*, **119**, 71-91).
1958. SCHULTZ (H.) et PAOLA (D. de). — Delta Cytomembranen und lamelläre cytosomen. Ultrastruktur, Histochemie und ihre beziehungen zur Schleimsekretion (*Zeitsch. Zellforsch.*, **49**, 125-141).
1900. SINETY (R. de). — Les tubes de Malpighi chez les phasmes (*Bull. Soc. Ent. Fr.*, 333-335). — 1901. Recherche sur la biologie et l'anatomie des phasmes (*La cellule*, **19**, 117-278).
- 1858 a. SIRODOT (S.). — Recherches sur les sécrétions chez les Insectes (*Ann. Sc. Nat. Zool.*, **10**, 141-189). — 1858 b. Recherches sur les sécrétions chez les Insectes (*Ann. Sc. Nat. Zool.*, **10**, 251-334).
1956. SjöSTRAND (F. S.). — Electron microscopy of cells and tissues (dans *Physical techniques in biological research*, Oster and Pollister, Academic Press, New York, 241-299).
1953. SjöSTRAND (F. S.) et RHODIN (J.). — The ultrastructure of the proximal convoluted tubules of the mouse kidney as revealed by high resolution electron microscopy (*Exp. Cell. Res.*, **4**, 426-456).
1955. STADDON (B. W.). — Excretion and storage of ammonia by the aquatic larva of *Sialis lutaria* (*J. Exp. Biol.*, **32**, 84-94). — 1959. Excretion of ammonia by the aquatic larva of the dragon fly (*J. Exp. Biol.*, **36**, 566-574).

1960. STAÜBLI (W.). — Nouvelle matière d'inclusion hydrosoluble pour la cytologie électronique (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, **250**, 1137-1139).
1956. STRAUS (W.). — Concentration of acid phosphatase, desoxyribonuclease, glucuronidase and cathepsine in « droplets » isolated from the kidney cells of normal rat (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **2**, 513-522). — 1957. Segregation of intravenously injected protein by « droplets » of the cells of the rat kidney (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **3**, 1037-1039). — 1959. Rapid cytochemical identification of phagosomes in various tissues of the rat and their differentiation from mitochondria by the peroxidase method (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **5**, 193-204).
1955. STRAUS (W.) et OLIVER (J.). — Cellular mechanisms of protein metabolism in the nephron (*J. Exp. Med.*, **102**, 1-9).
1958. SUZUKI (Y.). — An electron microscopy of the renal differentiation. I. Proximal tubule cells (*J. Electr. Micr.*, **6**, 52-62).
1945. TIMON-DAVID (J.). — Fragments de biochimie entomologique. Excrétion et sécrétion (*Ann. Fac. Sc. Marseille*, **16**, 179-235).
1935. TRUSZKOWSKI (R.) et CHAJKINOVNA (S.). Nitrogen metabolism of certain invertebrates (*Bioch. J.*, **29**, 2361).
- 1904 a. VENEZIANI (A.). — Valore morfologico e fisiologico dei tubi Malpighiani (*Redia*, **2**, 177-230). — 1904 b. Notte sulla struttura histologica e sul meccanismo d'escrezione dei tubi di Malpighi (*Monit. Zool. ital.*, **14**, 322-340).
1871. VIRCHOW (R.). — *Die cellular Pathologie*, 4^o Auflag, Hirschwald, Berlin.
1960. WALLACE (J.). — The relation of mitochondrial morphology to succin oxydase activity observed in the rat kidney after protein injection (*J. Histochem. Cytochem.*, **8**, 105-112).
1950. WATERHOUSE (D. F.). — Studies of the physiology and toxicology of blowflies (*Austr. J. Sc. Res.*, **3**, 76-112).
1909. WEINLAND (E.). — Chemische Beobachtungen an der Fliege *Calliphora* (*Biol. Zentrabl.*, **29**, 564-577).
1955. WEISS (J. M.). — Intracellular changes due to neutral red as revealed in the pancreas and kidney of the mouse by the electron microscope (*J. Exp. Med.*, **100**, 213-223).
1931. WIGGLESWORTH (V. B.). — The physiology of excretion in a blood-sucking insect *Rhodnius prolixus* (*J. Exp. Biol.*, **8**, 441-451). — 1933. On the function of the so-called rectal glands in Insects (*Quat. J. Micr. Sc.*, **75**, 131-150). — 1942. The storage of protein, fat, glycogen and uric acid in the fat body and other tissues of mosquito larvæ (*J. Exp. Biol.*, **19**, 56-77). — 1943. The fate of hemoglobin in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera Reduviidae) and other blood sucking arthropods (*Proc. Roy. Soc.*, **131**, 313-339). — 1953. *The principles of insect physiology*, Methuen and Co, London, 4^e édition.
1934. WILLSTÄTTER (R.) et ROHDEWALD (M.). — Über den Zustand des Glycogens in der Leber, im Muskel und in Leukocyten (*Z. Physiol. Chem.*, **225**, 103-124).
1959. WINTERINGHAM (F. P. W.). — Comparative aspects of insect biochemistry with particular reference to insecticidal action (dans *Biochemistry of Insects*, édité par L. Levenbook, Pergamon Press, London, 201-210).
1959. WOOD (R. L.). — Intercellular attachment in the epithelium of *Hydra* as revealed by electron microscopy (*J. Bioph. Bioch. Cyt.*, **6**, 343-352).
1939. YEAGER (J. F.). — Electrical stimulation of isolated heart preparation from *Periplaneta americana* (*J. Agr. Res.*, **59**, 121-138).

LÉGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I

ASPECT GÉNÉRAL DES TUBES DE MALPIGHI VIVANTS.

FIG. 1 et 2. — *Vue d'ensemble d'un tube de Malpighi vivant.*

FIG. 1. — Vue tangentielle : les granulations diverses qui chargent les cellules (*gr*) sont ici bien visibles. On distingue des cellules relativement peu chargées (*cpc*) et des cellules plus chargées (*ctc*). En *lc*, on remarque la limite entre deux cellules.

FIG. 2. — Vue sagittale du même tube : on peut remarquer que les granulations (*gr*) ont une localisation subpériphérique, la zone périphérique étant occupée par le système de cytomembranes (*cm*) qui repousse les grosses granulations vers le centre cellulaire.

La lumière du tube est presque complètement oblitérée et vide, seuls quelques urosphériles isolés *y* sont visibles (*ur*). Grandissement : $\times 500$ environ.

FIG. 3 et 4. — *Deux aspects classiques des tubes de Malpighi du Grillon.*

FIG. 3. — Les cellules sont chargées et le tube comment à s'épurer. On distingue en *a* des cellules partiellement épurées, la lumière se remplissant d'urosphériles. En *ed* on distingue la partie distale indifférenciée du tube de Malpighi normal.

FIG. 4. — Les cellules sont vides et la lumière est chargée d'urosphériles. Grandissement : $\times 65$ environ.

PLANCHE II

Toutes les planches suivantes, sauf indication contraire, sont relatives à des tubes fixés à l'acide osmique tamponné selon Palade.

FIG. 5. — *Aspect général d'une cellule observée au microscope électronique dans sa partie basale.*

Le système de cytomembranes (*cm*) est très développé, il emprisonne un grand nombre de mitochondries (*mi*). Dans la zone médiane de la cellule, on observe une zone riche en urosphériles (*ur*). Parmi ces urosphériles, on observe plusieurs vacuoles à concrétion (*vc*). Dans la partie inférieure de la figure se trouve le noyau (*N*) et la zone à globules hyalins (*gl*).

La basale (*ba*) enveloppe tout le tube.

Cette cellule correspond sensiblement aux cellules relativement chargées indiquées par (*ctc*) dans la figure 1. Grandissement : $\times 16\ 000$ environ.

PLANCHE III

FIG. 6. — Zone basale d'une cellule en activité: les cytomembranes.

Sous la basale (*ba*), stratifiée au voisinage d'une bande musculaire, on observe les cytomembranes (*cm*) au tracé tourmenté. De nombreux urosphériles (*ur*) sont en cours de dépôt, tandis que les vacuoles à concrétion (*vc*) sont à des stades divers de condensation. En (*vcf*), on observe vraisemblablement une vacuole à concrétion en cours de formation. Cette image suggère une parenté entre la paroi de ces vacuoles et les membranes flexueuses (*mf*) qui flanquent les cytomembranes. Grandissement : $\times 53\,000$ environ.

PLANCHE IV

LA MEMBRANE INTERCELLULAIRE ET SES DIFFÉRENCIATIONS.

FIG. 7. — La membrane intercellulaire et les dispositifs d'ancrage.

La membrane intercellulaire plus contrastée que les cytomembranes (*cm*) est finement structurée (*ci*).

En certains endroits, cette membrane fortement contournée constitue un dispositif d'ancrage intercellulaire. Grandissement : $\times 25\,000$ environ.

FIG. 8. — La membrane intercellulaire en coupe transversale (*ct*) et en vue tangentielle (*tg*) à un fort grandissement.

On distingue la structure finement fibreuse et orientée de la membrane. En coupe transversale, on observe bien les courtes lamelles qui donnent cet aspect. Grandissement : $\times 80\,000$ environ.

PLANCHE V

RELATIONS ENTRE LES CYTOMEMBRANES ET LES MEMBRANES FLEXUEUSES.

FIG. 9. — Cellule normale.

Les cytomembranes et les membranes flexueuses normales sont bien visibles en *cm* et *mf*.

Très souvent, on observe, comme en *a*, des cytomembranes dont les composantes se dissocient plus ou moins complètement pour venir s'accoler à nouveau quelques centièmes ou quelques dixièmes de microns plus loin.

Dans cette image, on observe une cytomembrane qui se perfore en *b* et dans le prolongement de laquelle se trouve une membrane flexueuse (*mf*).

Cette membrane flexueuse correspond très vraisemblablement à une portion transformée de la cytomembrane. Grandissement : $\times 63\,000$ environ.

FIG. 10. — Les cytomembranes dans des tubes de Malpighi soumis depuis vingt heures environ à l'action d'ions phosphates (injection de $0,1\text{ cm}^3$ d'une solution à 3 p. 100 de phosphate disodique).

On observe l'association par trois des cytomembranes dans la plupart des cas.

On peut remarquer que les perforations (*p*) n'intéressent que la membrane médiane et que les membranes flexueuses sont totalement absentes sous leur forme classique.

Les membranes flexueuses ont ici gardé ou acquis la morphologie des cytomembranes. Grandissement : $\times 33\,000$ environ.

PLANCHE VI

DIFFÉRENTS ASPECTS DE LA BORDURE INTERNE D'UNE CELLULE NORMALE.

FIG. 11. — *La bordure interne dans une cellule banale.*

Cette bordure (*bi*) est formée d'expansions anastomosées du cytoplasme dans lesquelles s'engagent les mitochondries (*mi*).

Sous la bordure interne, on devine la zone fibreuse (*zf*) qui la limite vers la cellule.

Aucune vacuole de pinocytose n'est ici visible. Grandissement : $\times 33\ 000$ environ.

FIG. 12. — *Bordure interne d'une cellule au cours de l'élimination des urosphérites.*

Traversant la zone sub-apicale on distingue en (*rc*) les racines des canalicules qui constituent l'axe des digitations de la bordure (*bi*). Une cloison intercellulaire (*ci*) est ici visible.

Les urosphérites (*ur*) semblent en voie de dissolution : il est probable qu'il s'agit là d'un artefact. Grandissement : $\times 30\ 000$ environ.

PLANCHE VII

QUELQUES ASPECTS DU NOYAU DANS LA CELLULE BANALE.

FIG. 13. — *La structure annelée (sa) de la membrane nucléaire est ici bien visible.*

L'ergastoplasme (*er*) est relativement abondant. Grandissement : $\times 18\ 000$.

FIG. 14. — *Vue d'ensemble d'un noyau après une fixation au permanganate de potassium.* On observe à côté du nucléole (*nu*) une structure filamenteuse (*X*). Grandissement : $\times 12\ 000$.

FIG. 15. — *Aspect d'une de ces structures filamenteuses intranucléaires.* On distingue bien le cortex opaque et l'axe clair des fibres. Grandissement : $\times 60\ 000$.

PLANCHE VIII

LES MUCOCYTES.

FIG. 16. — *Aspect général d'un mucocyte (MC) dans sa partie basale.*

Des particules de glycogène (*gly*) sont éparses dans tout le cytoplasme et des systèmes lamellaires (*sl*) enveloppent le mucus.

On peut noter la petite taille des mitochondries (*mi*) et l'absence de globules (*gl*) que l'on retrouve au contraire en abondance dans les cellules banales voisines (*CB*).

Le mucocyte est pourvu de cytomembranes comme une cellule banale. Grandissement : $\times 24\ 000$ environ.

FIG. 17. — *Aspect général d'un mucocyte dans sa partie apicale.*

On peut constater que la bordure interne est à peu près identique dans le mucocyte et dans la cellule banale (*CB*). Grandissement : $\times 24\ 000$ environ.

FIG. 18. — *Partie d'un système lamellaire plus grossie.*

Noter l'absence de grains de Palade. Grandissement : $\times 45\ 000$.

PLANCHE IX

CELLULES EMBRYONNAIRES ET EXTRÉMITÉ DU TUBE.

FIG. 19. — *Coupe au niveau de la jonction entre le segment fonctionnel et le segment distal, resté indifférencié, du tube.*

La dernière cellule active (CA) est remplie d'urosphérîtes et les cytomembranes y sont nombreuses et développées.

Au contraire, dans la cellule appartenant au segment distal du tube et restée partiellement embryonnaire (CE), les urosphérîtes sont absents et les cytomembranes relativement plus simples.

La bordure interne (bi) est du type embryonnaire, elle est formée de filaments indépendants, fins et très longs. Mais les mitochondries s'y engagent, ce qui correspond à un début de différenciation de la cellule.

En fm, on observe l'un des faisceaux de fibres musculaires qui entourent le tube. Grandissement : $\times 9\,500$ environ.

FIG. 20. — *Région apicale d'une cellule d'un tube embryonnaire avec une coupe légèrement oblique de la bordure interne.*

On ne distingue aucune différenciation dans l'axe des digitations. Grandissement : $\times 50\,000$ environ.

FIG. 21. — *Région basale d'une cellule embryonnaire au début de la différenciation.*

Les cytomembranes (cm), toujours entières, sont relativement peu développées. Les mitochondries (mi) sont arrondies et possèdent de nombreuses crêtes serrées. On peut noter l'absence de vacuoles à concrétion. Grandissement : $\times 53\,000$.

PLANCHE X

LE CANAL COLLECTEUR ET L'URÈTRE.

FIG. 22. — *Région basale d'une cellule de collecteur.*

On reconnaît la gaine musculaire formée de fibres épaisses et cloisonnées (gm); de nombreuses trachées sont présentes (tr).

La basale (ba) est nettement stratifiée, les fibres musculaires et les trachées sont intercalées entre les différentes couches.

Le collecteur possède de rares et très réduites cytomembranes (cm). Ses cellules sont d'autre part très pauvres en mitochondries. Grandissement : $\times 16\,000$ environ.

FIG. 23. — *La bordure interne du collecteur.*

De nombreuses digitations (d), fines, assez espacées et peu anastomosées, la caractérisent. Aucune mitochondrie ne pénètre dans ces digitations. Quelques vacuoles de pinocytose sont visibles, notamment en cp. Grandissement : $\times 12\,000$ environ.

FIG. 24. — *Une coupe de l'urètre à un faible grandissement.*

On distingue bien la cuticule chitineuse (ch) qui revêt la lumière du tube. Les cellules, denses, ne possèdent aucune différenciation au pôle apical, sous la cuticule. Grandissement : $\times 5\,000$ environ.

PLANCHE XI

LES STRUCTURES HYDROPHILES.

FIG. 25. — *Aspect général de la région apicale de cellules excrétrices chez un animal soumis à une néphrose osmotique.*

Les mitochondries (*mi*) sont gonflées tandis que de nombreuses vacuoles (*v*) envahissent le cytoplasme.

Sous la bordure en brosse (*bb*), aux digitations bien séparées et contenant des vacuoles, la zone fibrillaire (*zf*) est bien visible.

Dans la lumière du tube (*lt*), on observe quelques urosphérites (*ur*). Grandissement : $\times 20\,000$ environ.

FIG. 26. — *Les structures hydrophiles dans une cellule normale.*

Entre les cytomembranes (*cm*) de nombreux tubules (*tu*) sont visibles. Ils sont contenus dans des vésicules dont la paroi est constituée par une membrane flexueuse. En (*sh*) une de ces structures est isolée dans le cytoplasme central. Des vacuoles à concrétion (*vc*) et des mitochondries peuvent être observées. Grandissement : $\times 45\,000$ environ.

PLANCHE XII

FIG. 27. — *Les vacuoles dans la région basale d'une cellule excrétrice chez un animal soumis à une néphrose osmotique.*

On remarque dans les vacuoles les tubules (*tu*) peu altérés des structures hydrophiles. Les cytomembranes (*cm*) sont considérablement anastomosées et leur aspect général est très différent de celui observé dans une cellule normale. Grandissement : $\times 60\,000$ environ.

PLANCHE XIII

DIFFÉRENTS ASPECTS DE LA BORDURE INTERNE ET DE SON ULTRASTRUCTURE.

FIG. 28. — *Bordure en brosse d'un animal soumis à une néphrose osmotique.*

On distingue bien sous la bordure en brosse la zone fibrillaire (*zf*). Les digitations (*d*) de la bordure en brosse sont parcourues par un canalicule axial (*ca*) dans lequel s'engagent mitochondries (*mi*), urosphérites et vacuoles (*v*). Grandissement : $\times 45\,000$ environ.

FIG. 29. — *Bordure en brosse dans un animal normal après une fixation au permanganate de potassium.*

Les digitations, ici vues en coupe longitudinale, montrent le canalicule axial (*ca*) dont on voit les racines (*rc*) traverser la zone fibrillaire (*zf*) transparente aux électrons. Grandissement : $\times 45\,000$ environ.

FIG. 30. — *Coupe transversale d'une bordure en brosse dans les mêmes conditions.*

On distingue nettement dans l'axe des digitations le canalicule. Grandissement : $\times 42\,000$ environ.

PLANCHE XIV

FIG. 31 et 32. — *Aspects particuliers que revêtent les structures hydrophiles dans certaines cellules.*

FIG. 31. — Arrangements réguliers de tubules formant des pseudocristaux. Grandissement : $\times 63\,000$ environ.

FIG. 32. — Aspect de désorganisation des pseudocristaux.

On distingue ici, autour de la masse des tubules, la membrane qui les enveloppe (*m*). Grandissement : $\times 44\,000$ environ.

FIG. 33. — *Les amas de glycogène intracellulaires.*

Le glycogène (*gly*) est sous forme particulaire et se groupe en amas facilement visibles au microscope optique. Dans le cytoplasme, on distingue d'autre part de nombreuses structures hydrophiles (*sh*). Grandissement : $\times 19\,000$ environ.

PLANCHE XV

LES UROSPHÉRITES.

FIG. 34. — *Aspect des urosphérites après une fixation osmique.*

On observe bien la zonation concentrique des urosphérites. Les séries de couches sont identiques dans tous les grains de cette zone de la cellule. On voit par endroits la membrane (*mv*) de la vacuole à concrétion. Grandissement : $\times 55\,000$ environ.

FIG. 35. — *Aspect des urosphérites après une fixation au permanganate de potassium.* Grandissement : $35\,000$ environ.

FIG. 36. — *Aspect des urosphérites après une fixation au formol.*

Les structures cellulaires ont été disloquées par le faisceau d'électrons. Grandissement : $\times 35\,000$ environ.

PLANCHE XVI

FORMATION DES UROSPHÉRITES.

FIG. 37. — *Premiers stades de la différenciation des urosphérites à partir des vacuoles à concrétion.* La première couche opaque s'est déposée. Grandissement : $\times 40\,000$ environ.

FIG. 38. — *Autre aspect des premiers stades de la différenciation des urosphérites.*

La membrane de la vacuole se décolle de l'urosphérite prenant un aspect de membrane flexueuse. Les vacuoles à concrétion voisines présentent un phénomène analogue, la masse centrale se décollant de la membrane. Grandissement : $\times 40\,000$ environ.

FIG. 39. — *Un urosphérite près de sa taille définitive.*

La phase d'accumulation semble terminée, car les trois couches principales qui constituent le maximum usuel sont présentes.

« Nous pouvons observer par ailleurs un stade de régression de la tuméfaction trouble apparue après une injection d'eau distillée dans la cavité générale. Grandissement : $\times 40\,000$ environ.

FIG. 40. — *Cellule d'un animal ayant subi vingt-quatre heures auparavant une injection de peptonate de fer.*

Les vacuoles à concrétion (vc) sont opaques et leur contenu est finement granuleux. Grandissement : $\times 15\ 000$ environ.

PLANCHE XVII

ÉVOLUTION DES UROSPHÉRITES DANS LA LUMIÈRE APRÈS LEUR ÉLIMINATION DE LA CELLULE.

FIG. 41. — *Coupe transversale de tubes fixés à l'acétone.*

La méthode de Gomori de mise en évidence de la phosphatase alcaline révèle ici le calcium. On peut constater que, si, dans les cellules, la concentration des urosphérites en calcium est forte, dans la lumière elle devient beaucoup plus variable. Grandissement : $\times 650$ environ.

FIG. 42, 43 et 44. — *Différents aspects pris par les urosphérites dans la lumière après une fixation au permanganate de potassium.*

On constate que les couches claires augmentent d'épaisseur dans des proportions notables. Grandissement : $\times 21\ 000$ environ.

PLANCHE XVIII

TRANSFORMATIONS MITOCHONDRIALES APRÈS UNE INJECTION DE SPERMATOCYTES D'ASCARIS.

FIG. 45. — *Les crêtes se multiplient dans certaines mitochondries (mi_1) dont les dimensions augmentent tandis que d'autres restent inchangées (mi).*

Comme dans les cellules normales, un grand nombre de mitochondries sont engagées dans la bordure interne (bi). Grandissement : $\times 24\ 000$ environ.

PLANCHE XIX

TRANSFORMATIONS MITOCHONDRIALES APRÈS UNE INJECTION DE SPERMATOCYTES D'ASCARIS.

FIG. 46 et 47. — *Figures observées après quarante-huit heures.*

De très nombreuses crêtes s'observent dans des mitochondries dont la taille est considérable par rapport aux mitochondries normales. Les crêtes sont encore régulièrement disposées. Grandissement : $\times 15\ 000$ environ.

FIG. 48. — *Aspect anarchique des crêtes dans une mitochondrie observée au même stade.*

Crêtes et granules mitochondriaux se développent sans règle et emplissent la cavité de la mitochondrie. Grandissement : $\times 27\ 000$ environ.

[Dans une publication préliminaire (1959 c) une erreur de grandissement dans la même figure a doublé celui-ci.]

PLANCHE XX

FIG. 49. — *Les globules sous leur forme la plus courante dans les tubes de Malpighi.*

Il s'agit ici d'une cellule située dans la moitié proximale du tube moyen. On distingue dans les globules (*gl*) les vésicules (*ve*) émises ou absorbées par ces formations. Noter la présence de quelques membranes dans certains globules. Grandissement : $\times 19\ 000$.

FIG. 50. — *Globules observés à la fin de la phagocytose de spermatocytes d'Ascaris.*

Il s'agit de formations complexes où lames, formations en nid d'abeille correspondant à des phospholipides, et amas de nature inconnue, probablement protéique, voisinent. De tels globules se retrouvent chaque fois qu'il y a élimination de protéines. Grandissement : $\times 25\ 000$ environ.

FIG. 51. — *Autre aspect d'un globule dans le même animal.*

Il semble correspondre à un stade ultérieur au précédent, car on n'y retrouve plus de lames, mais seulement des amas de phospholipides (*pl*). Ce globule de très grosse taille (*gl*₁) est ici vu assez tangentiellement. Il est encore nettement différent des globules normaux qui restent inchangés (*gl*). Grandissement : $\times 27\ 000$ environ.

FIG. 52. — *Aspect des amas de phospholipides dans lesquels on observe une organisation régulière en lamelles parallèles (l).* Grandissement : $\times 80\ 000$ environ.

PLANCHE XXI

FIGURES D'ENGLOBEMENT PAR LES MITOCHONDRIES.

FIG. 53. — *Mitochondries englobant diverses inclusions cytoplasmiques (ic).*

Ces inclusions sont extérieures à la mitochondrie proprement dite. Grandissement : $\times 60\ 000$ environ.

FIG. 54. — *Mitochondrie (mi₁) englobant une autre mitochondrie (mi₂).* Grandissement : $\times 52\ 000$ environ.

FIG. 55. — *Mitochondries en sphères creuses ou en coupes situées dans la zone sub-apicale d'une cellule normale.*

Ces mitochondries peuvent englober uniquement du cytoplasme (*a*), ou des formations plus complexes comme en *b*. Grandissement : $\times 27\ 000$ environ.

PLANCHE XXII

DIFFÉRENTS ASPECTS DES CELLULES DANS LES TUBES VIVANTS.

FIG. 56. — *Tube totalement épuré.*

On distingue nettement la bordure en brosse (*bb*) limitée vers la cellule par la zone fibreuse très dense (*zf*). Quelques urosphériles sont visibles dans la lumière du tube (*ur*). Grandissement : $\times 500$.

FIG. 57. — *Tube en cours d'épuration.*

Une cellule chargée (*cc*) fait face à une cellule en cours d'épuration (*cce*). Grandissement : $\times 800$.

FIG. 58. — *Tube à gradient de charge (Tgr) et tube normalement chargé (TC).*

Dans les cellules à gradient, on distingue bien la partie épurée (*pe*) et la partie chargée (*pc*). Grandissement : $\times 375$.

FIG. 59. — *Tube présentant des cellules à divers états de charge.*

En *cl*, on observe une cellule épurée dont la bordure interne (*bi*) est bien visible. Une cellule chargée est visible en (*cc*). La lumière est encombrée d'urosphériles. Grandissement : $\times 250$.

PLANCHE XXIII

FIG. 60. — *Cellule épurée dans la moitié distale du tube moyen.*

Les cytomembranes (*cm*) sont entières et relativement peu développées. Les mitochondries (*mi*) sont ici peu nombreuses et enfermées pour la plupart dans des compartiments clos par les cytomembranes. Dans ces compartiments périphériques, on observe en outre des structures hydrophiles (*sh*). De rares globules (*gl*) sont visibles ainsi qu'un urosphérite (*ur*).

Le noyau (*N*) possède par ailleurs une membrane non annelée comme on peut s'en rendre compte en (*mn*) alors que, dans d'autres cas (figure 13), elle l'est. Grandissement : $\times 36\ 000$.

PLANCHE XXIV

CELLULES A GRADIENT DE CHARGE.

FIG. 61. — *Jonction entre la partie chargée d'une cellule (PC) et la partie épurée de la cellule voisine (PE).*

Dans la partie épurée, nous distinguons nettement les cytomembranes entières (*cm*), simples et peu développées. Les mitochondries périphériques (*mi*₁) et les mitochondries centrales (*mi*₂) sont bien différentes. La basale (*ba*) est ici finement stratifiée et on observe au niveau des flèches les très fines ramifications qui se détachent de chaque lame.

Dans la partie chargée en urosphérites (*ur*) et en globules (*gl*), les membranes sont très développées ainsi que les tubules des structures hydrophiles. Grandissement : $\times 30\ 000$ environ.

FIG. 62. — *Partie épurée d'une cellule à gradient de charge.*

Les cytomembranes (*cm*) sont toujours entières et peu développées. On aperçoit, ici éparses dans le cytoplasme, les structures hydrophiles (*sh*). Les globules (*gl*) présentent de nombreuses lames internes. Ces figures myéliniques sont très fréquentes à ce stade. En *vc*, on observe une vacuole à concrétion qui indique que la cellule est probablement déjà active. Grandissement : $\times 40\ 000$ environ.

PLANCHE XXV

TUBES DE MALPIGHI DE LA LARVE D'ÆSCHNE.

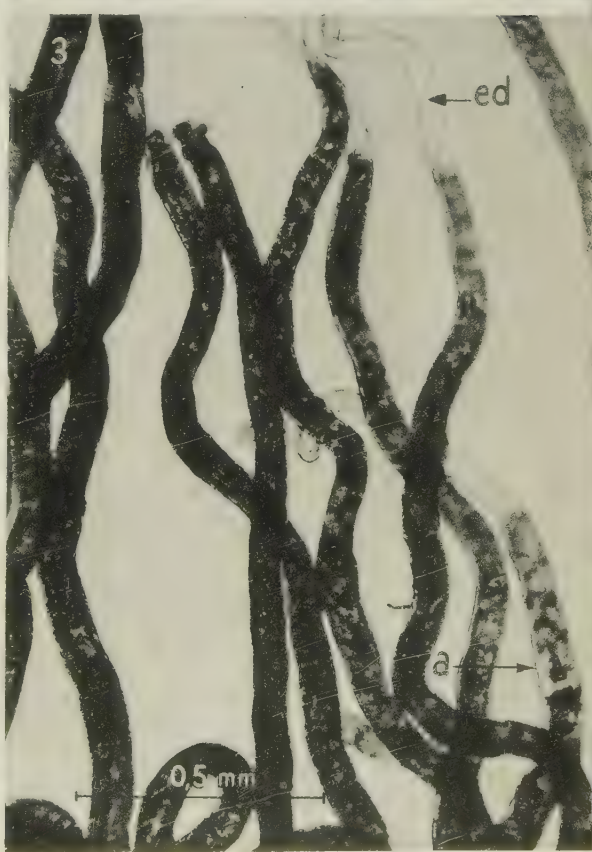
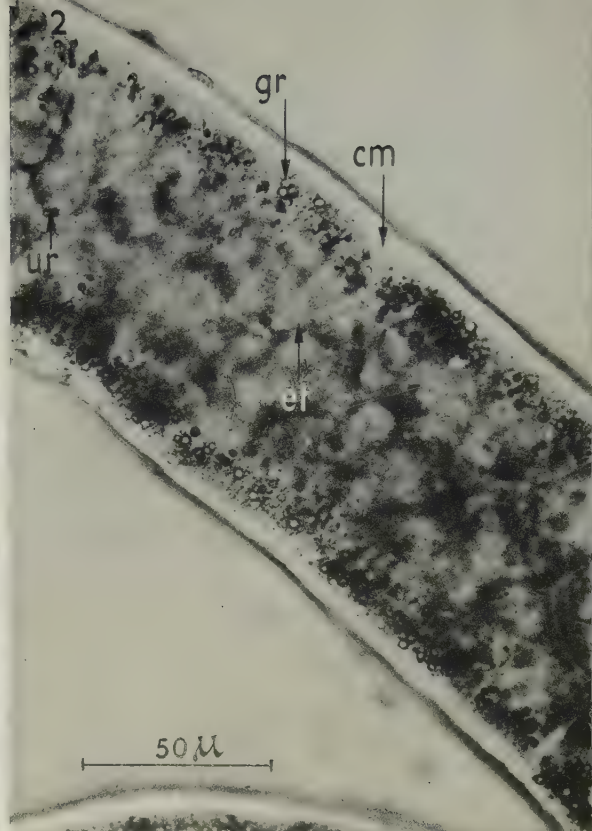
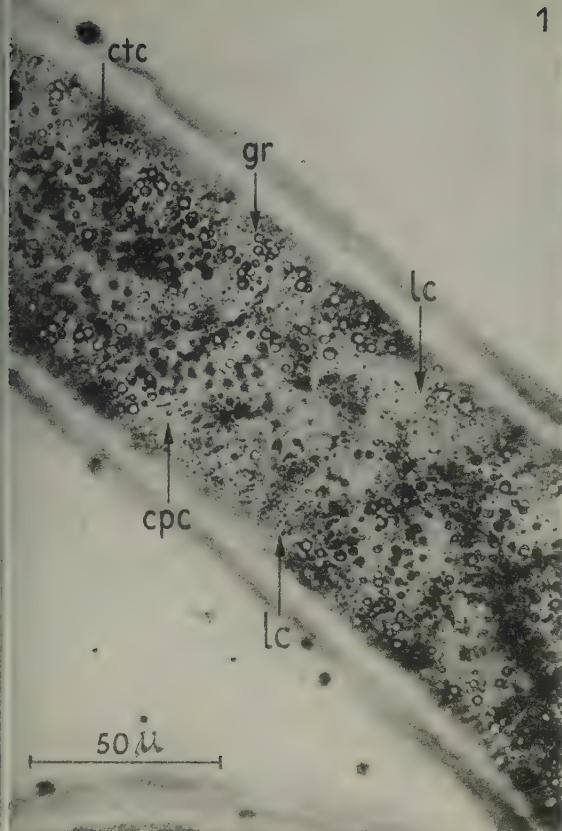
FIG. 63. — *Coupe dans la partie médiane du tube.*

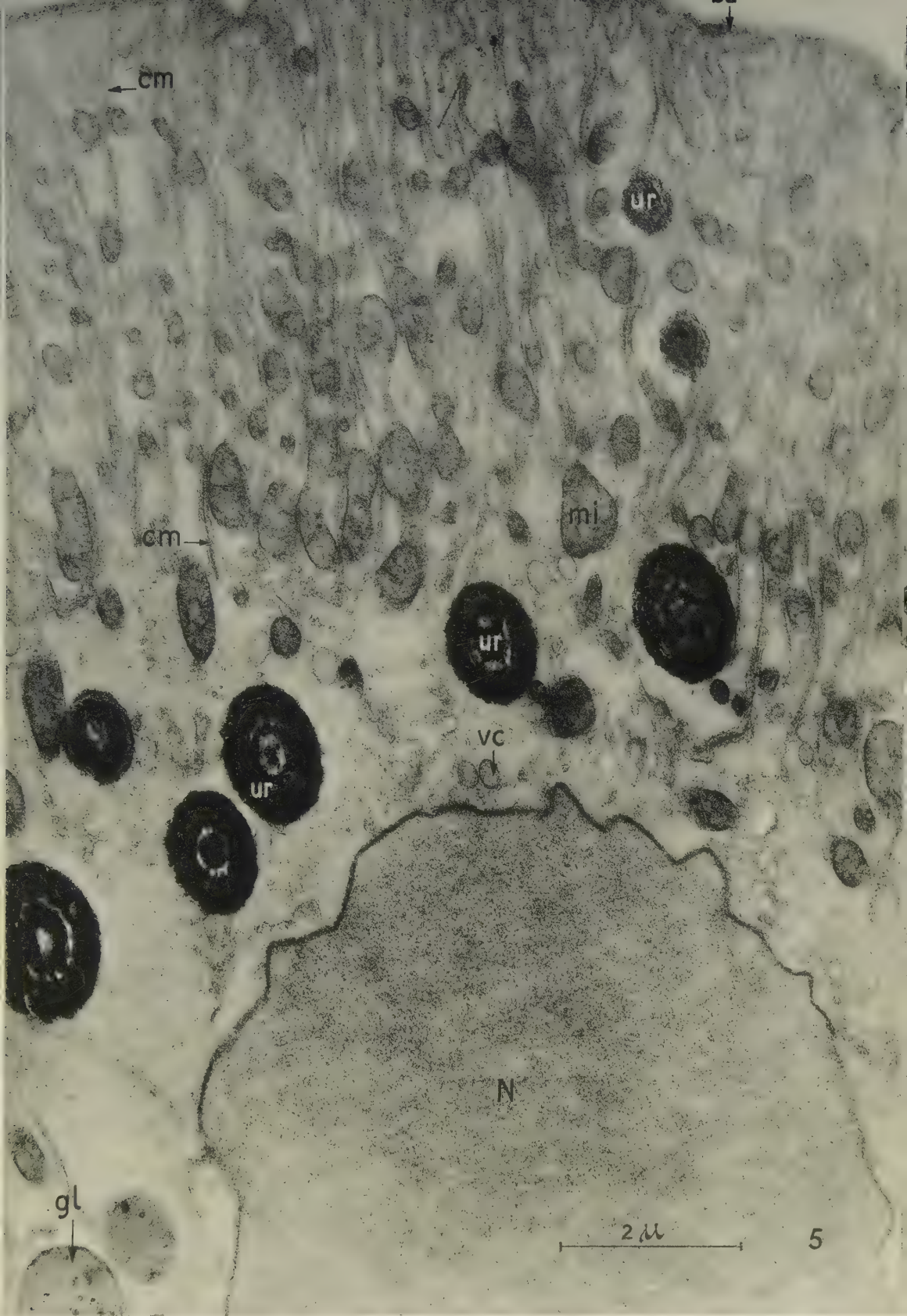
Les cytomembranes (*cm*) sont relativement développées. Le cytoplasme est caractérisé par la présence de très nombreuses vacuoles. Il se distingue par là de celui des cellules excrétrices du Grillon. Grandissement : $\times 17\ 000$ environ.

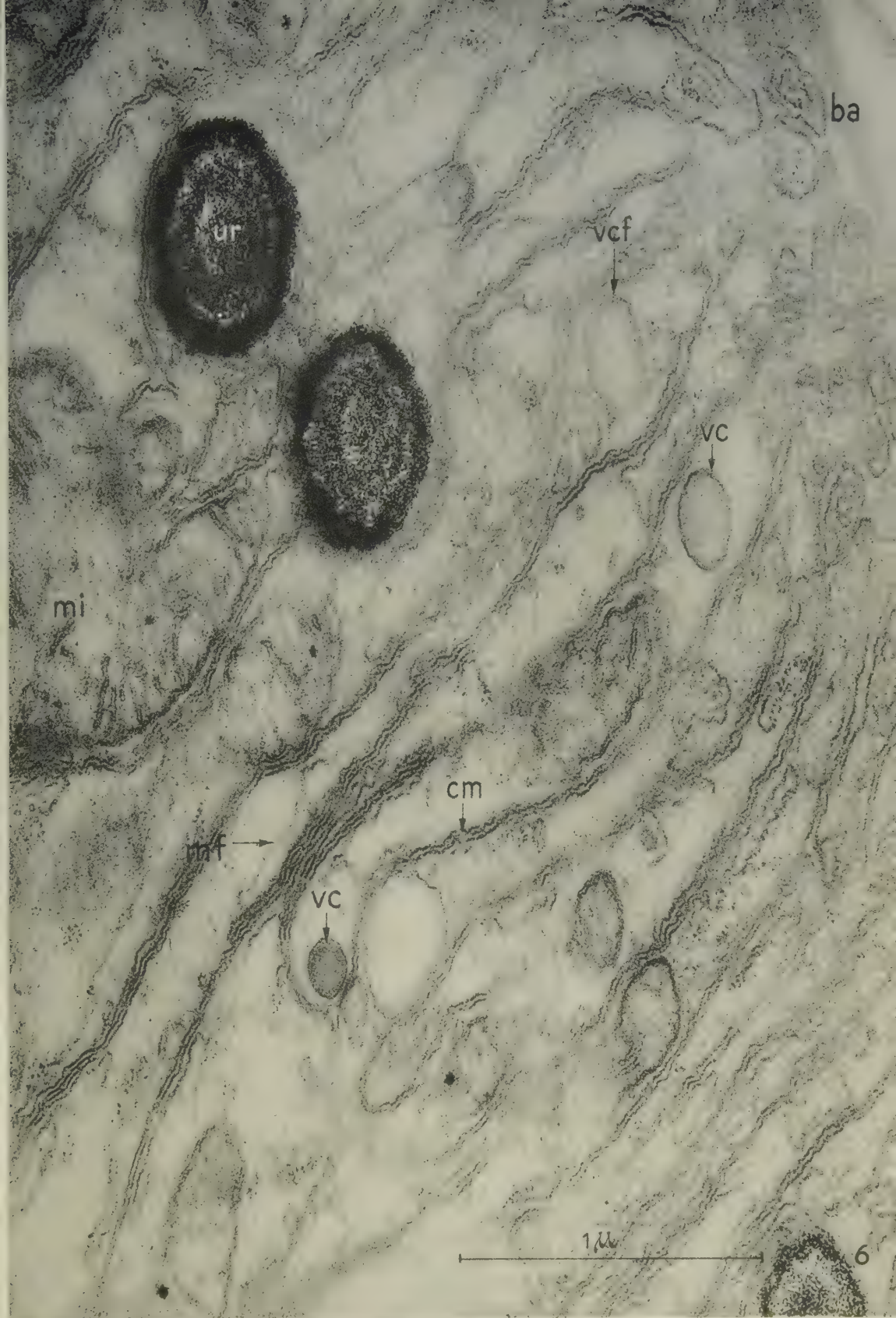
FIG. 64. — *Aspect du cytoplasme à un plus fort grandissement.*

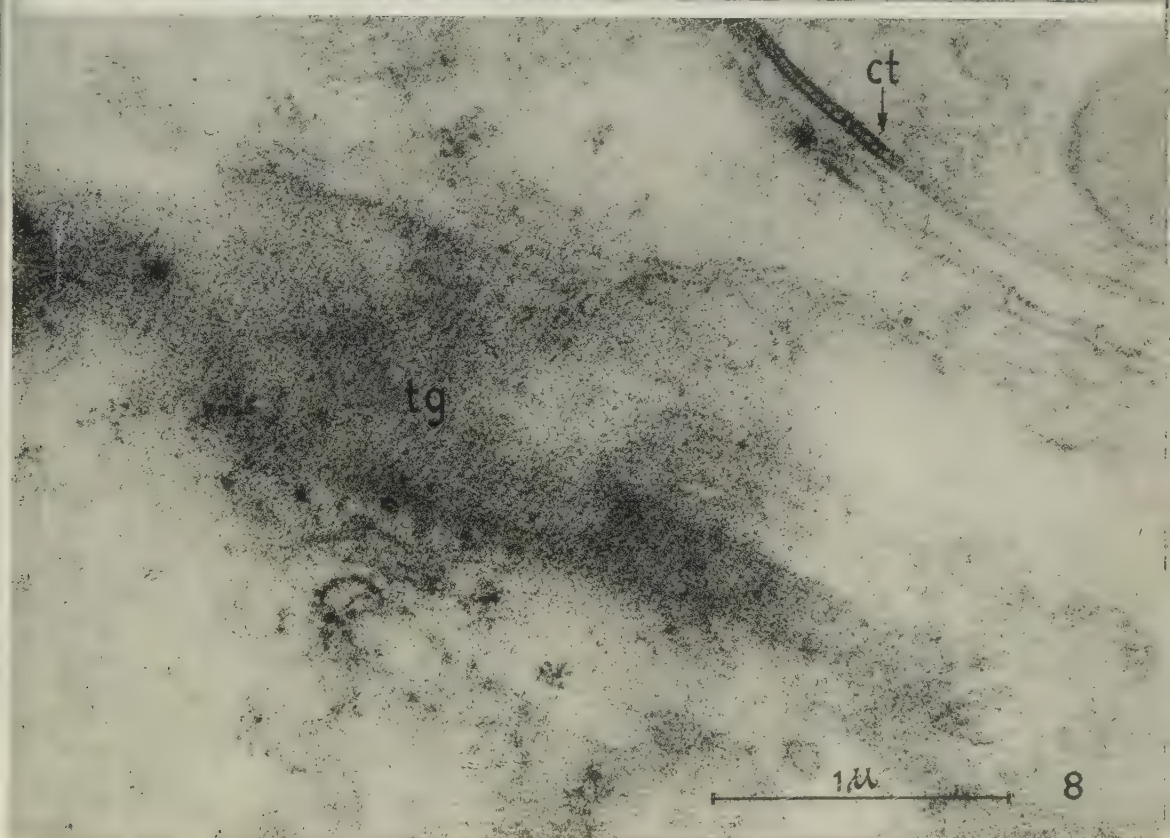
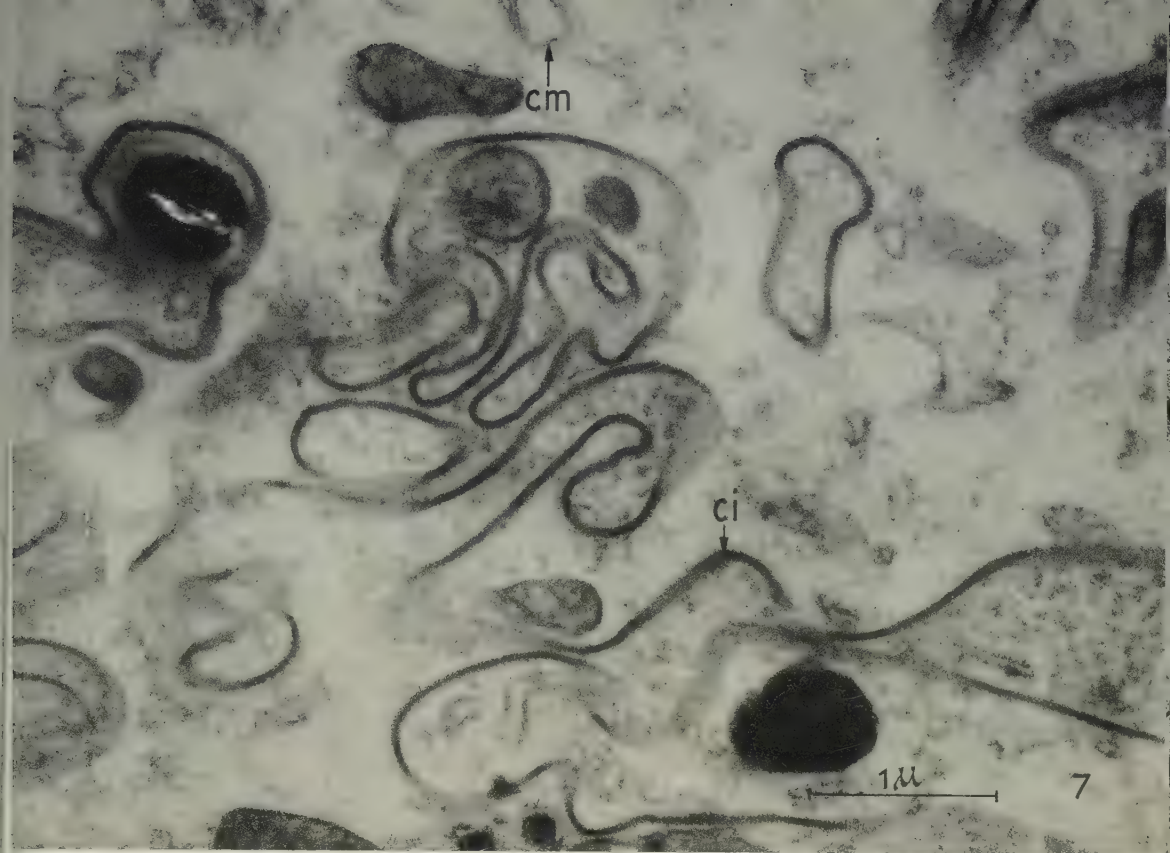
Les cytomembranes (*cm*) sont entières. Les enclaves intracytoplasmiques sont nombreuses : à côté des mitochondries (*mi*) nous trouvons des formations globulaires à paroi simple (*gl*).

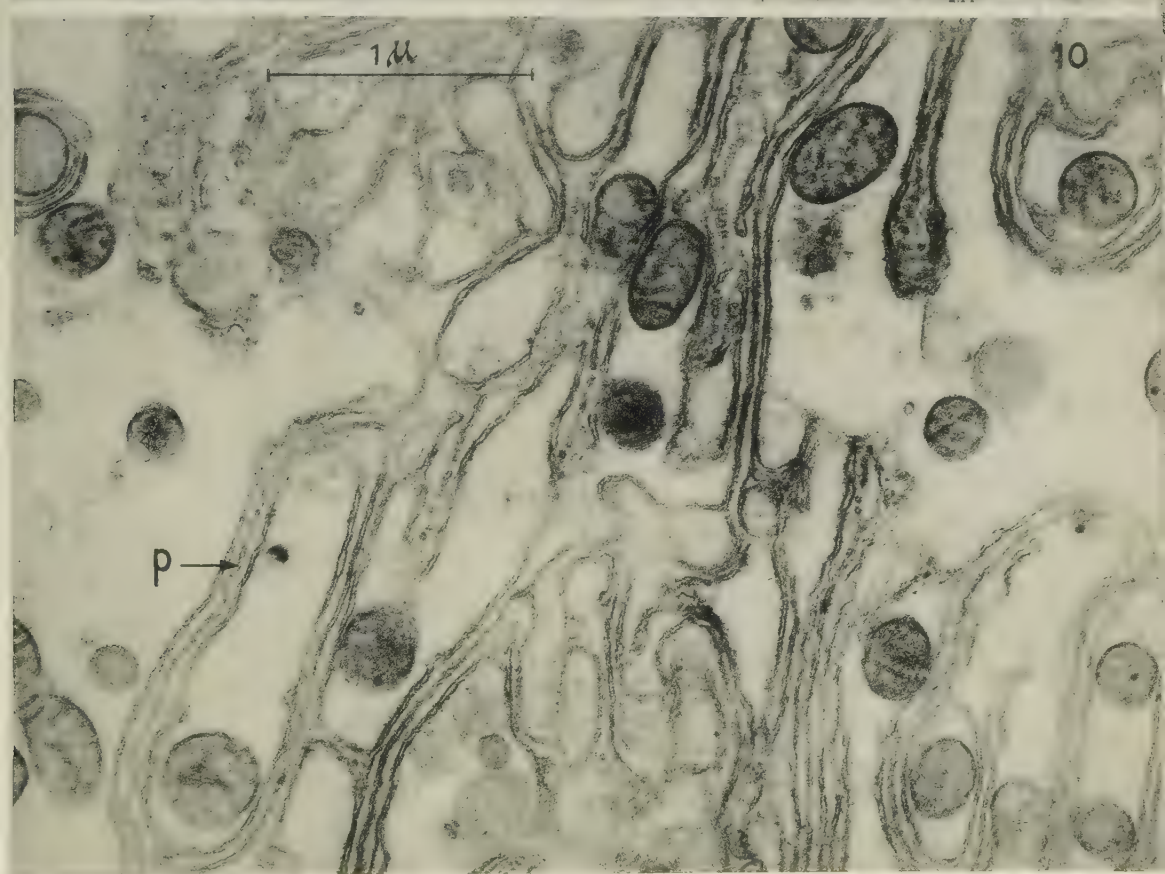
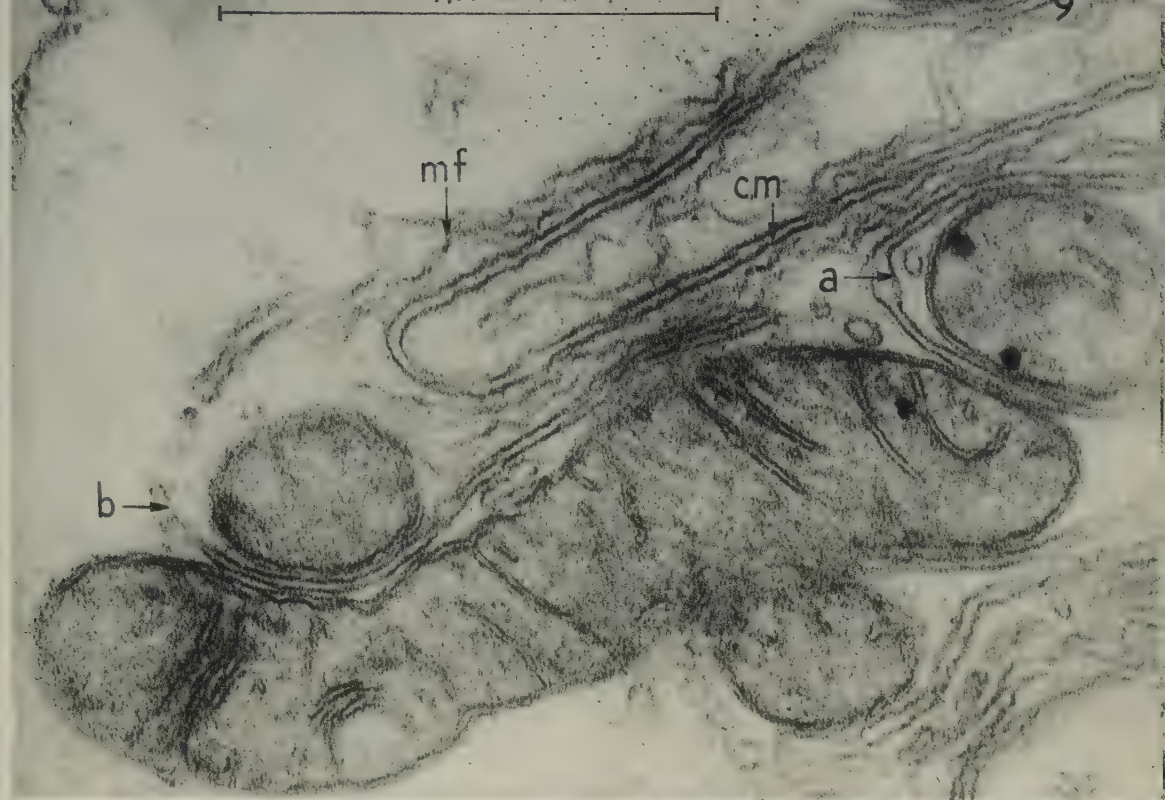
Une grande vacuole est visible (*v*). Quelques formations internes à cette vacuole la font ressembler aux vacuoles que l'on trouve dans les tubes contournés du rein des Mammifères et qui sont absentes normalement des tubes de Malpighi du Grillon. A côté de cette vacuole de nombreuses formations vésiculaires sont visibles. Grandissement : $\times 62\ 000$ environ.

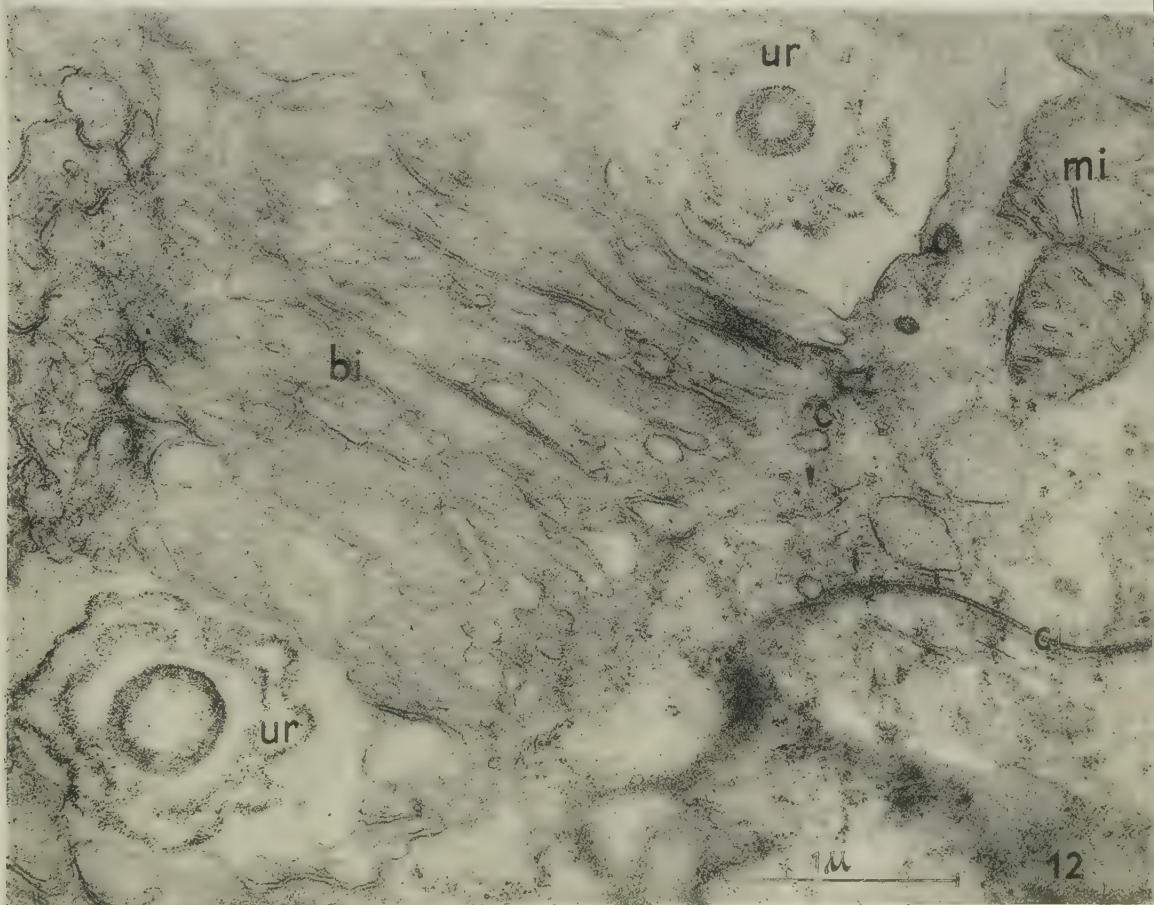
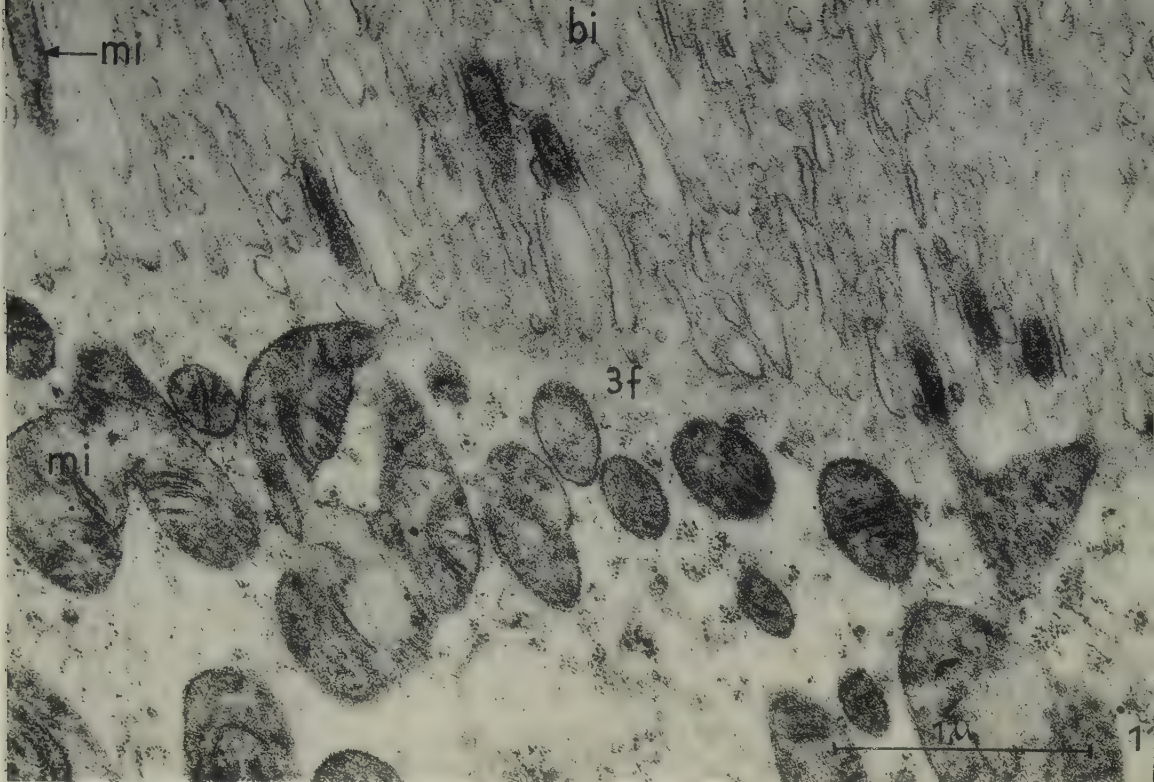


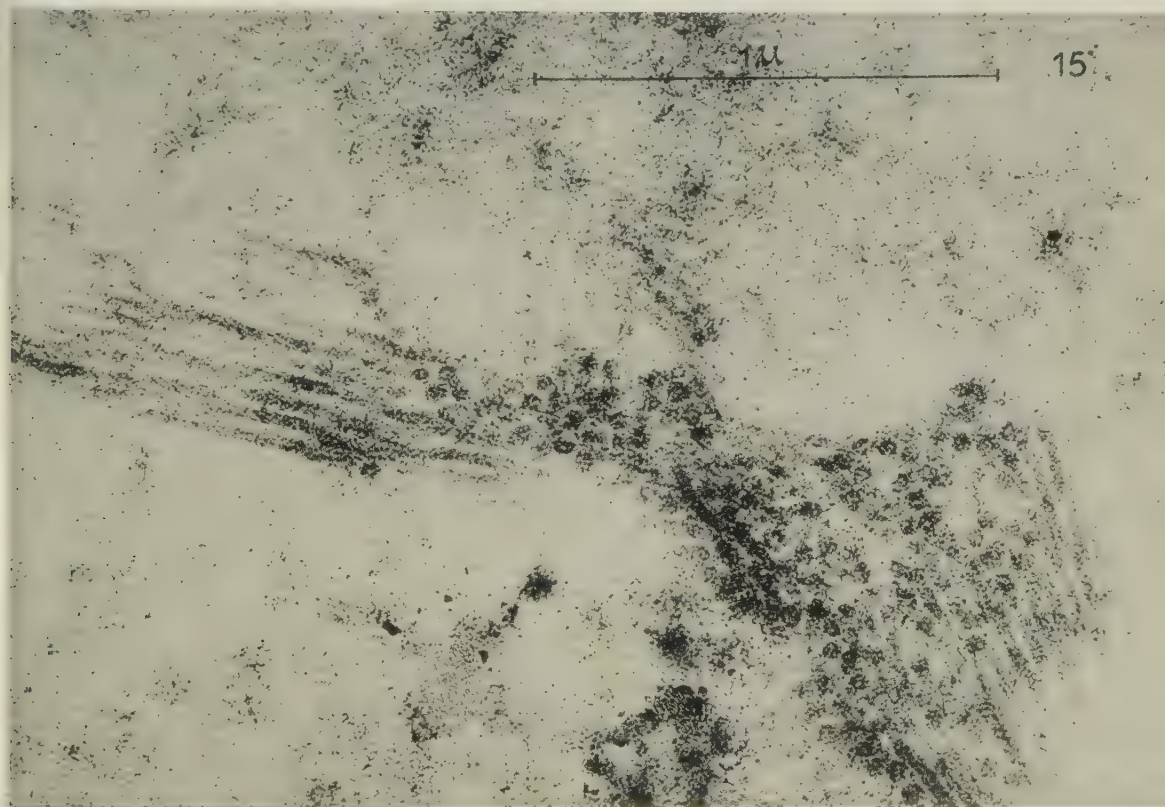
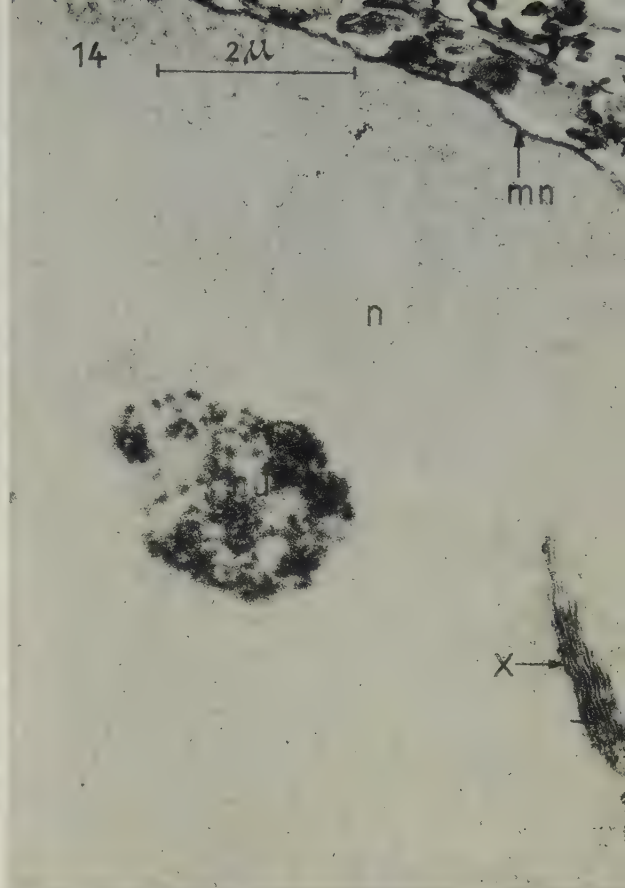
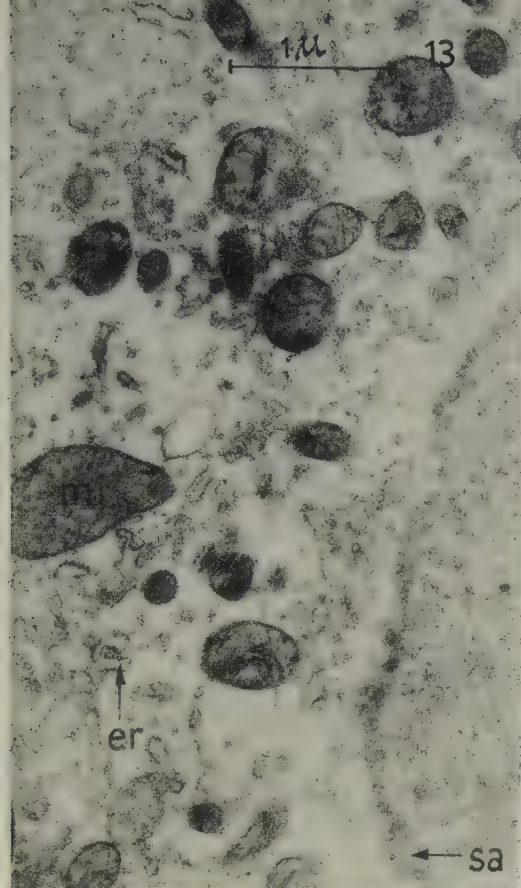


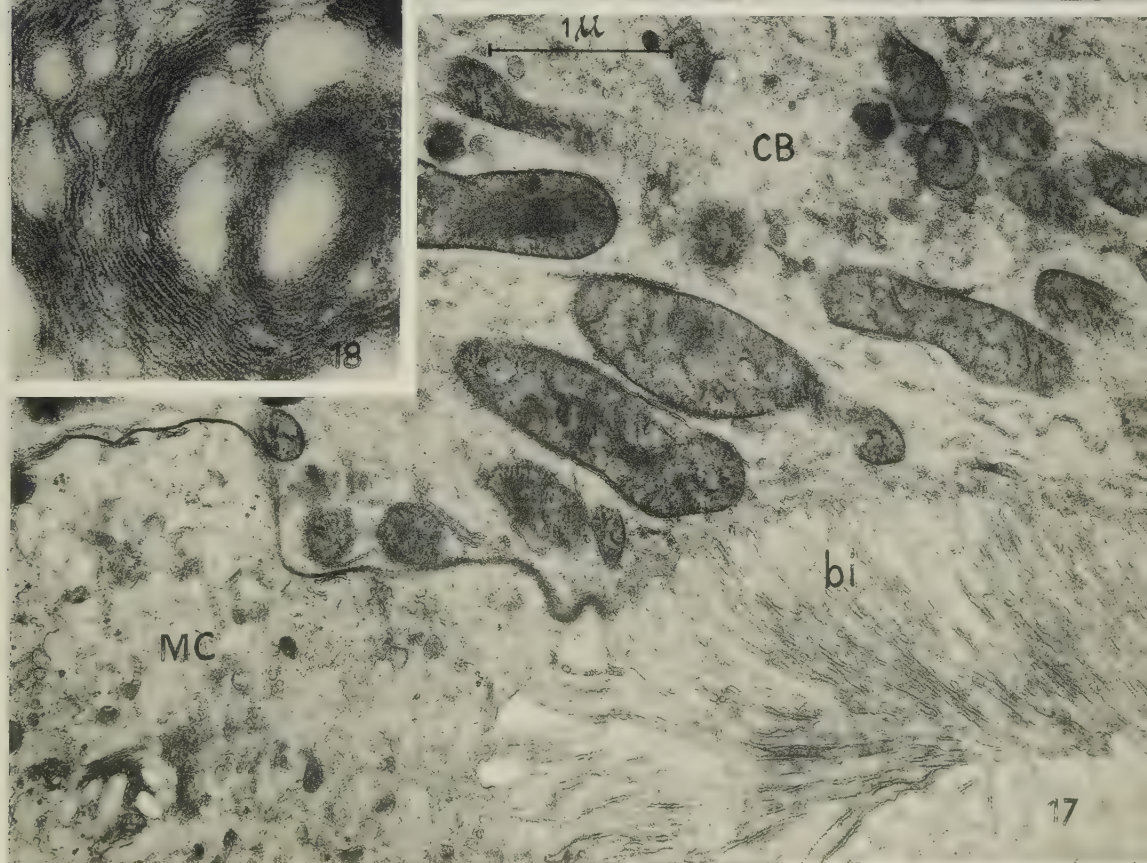
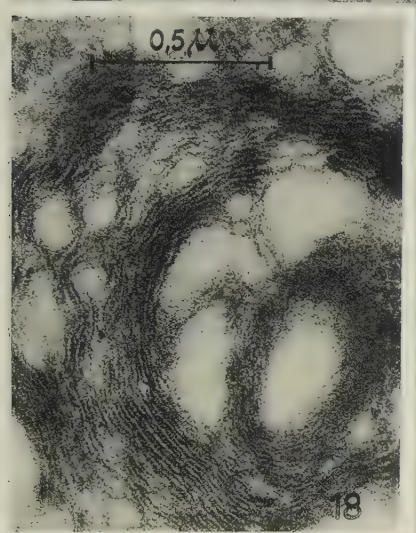
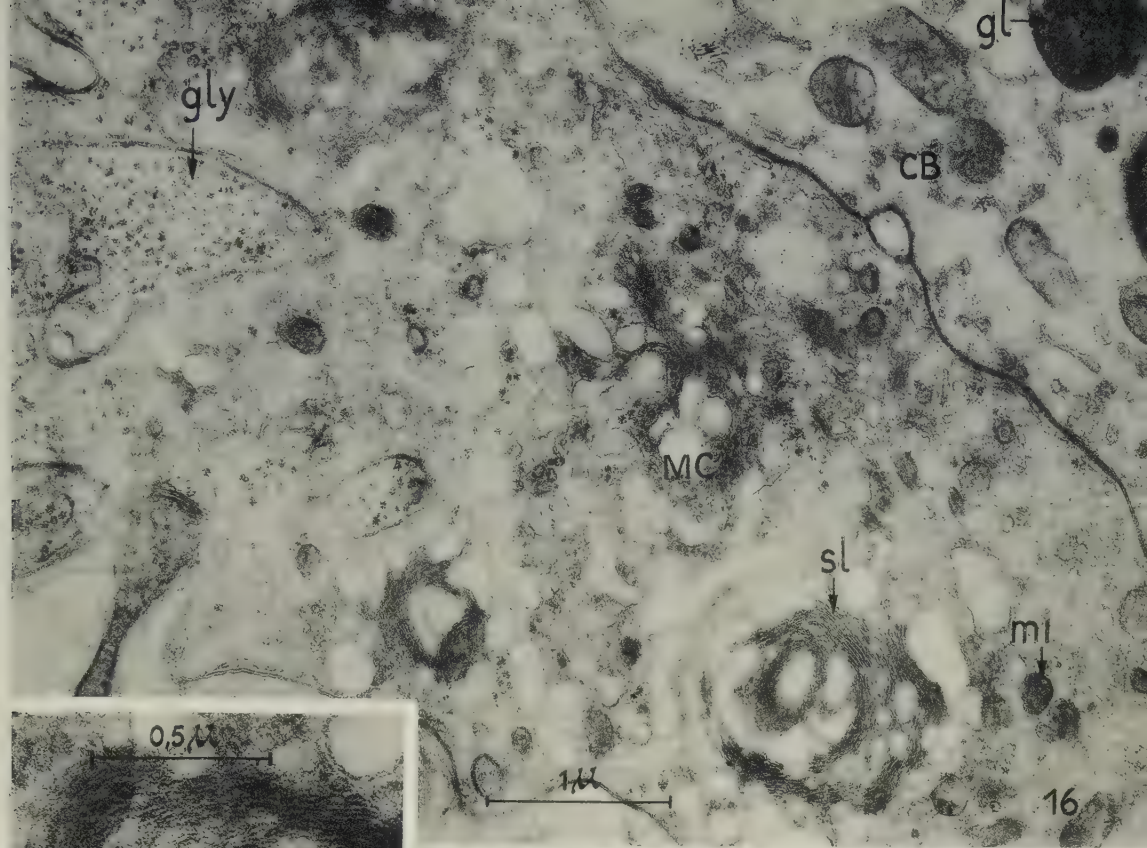


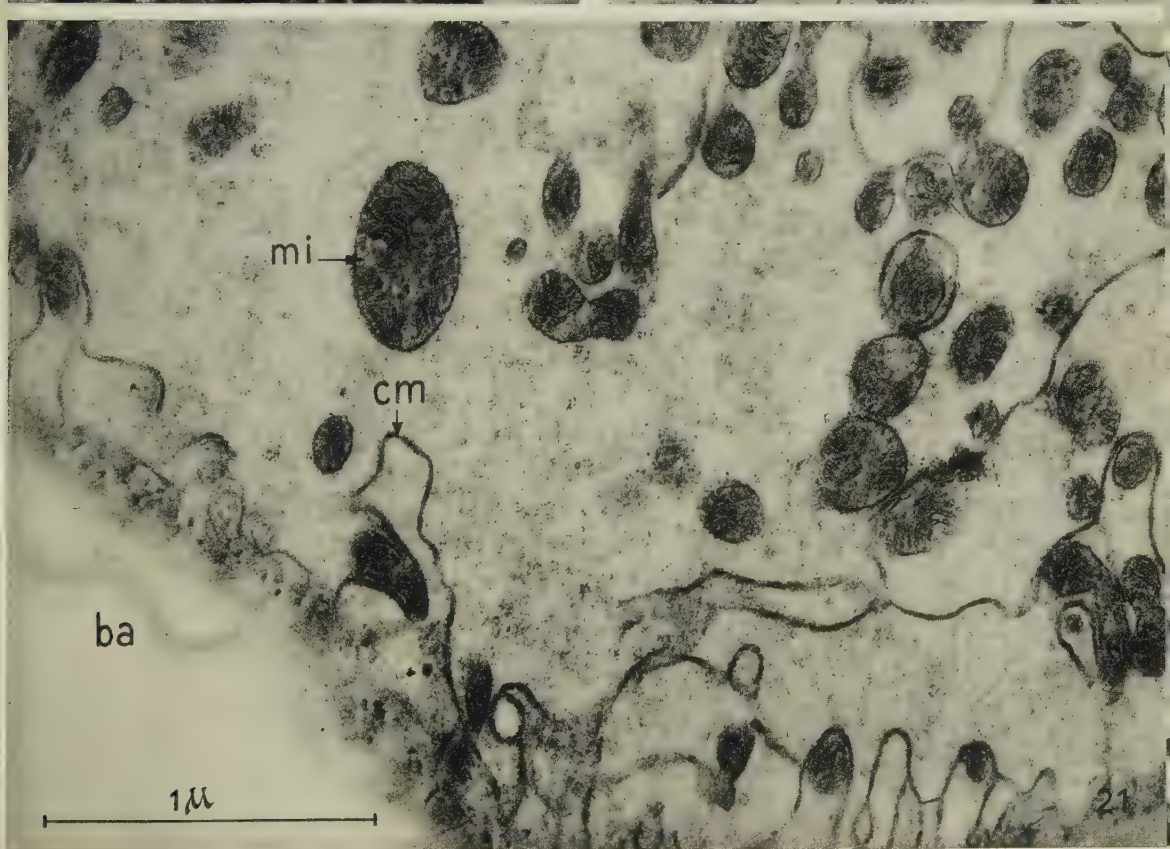
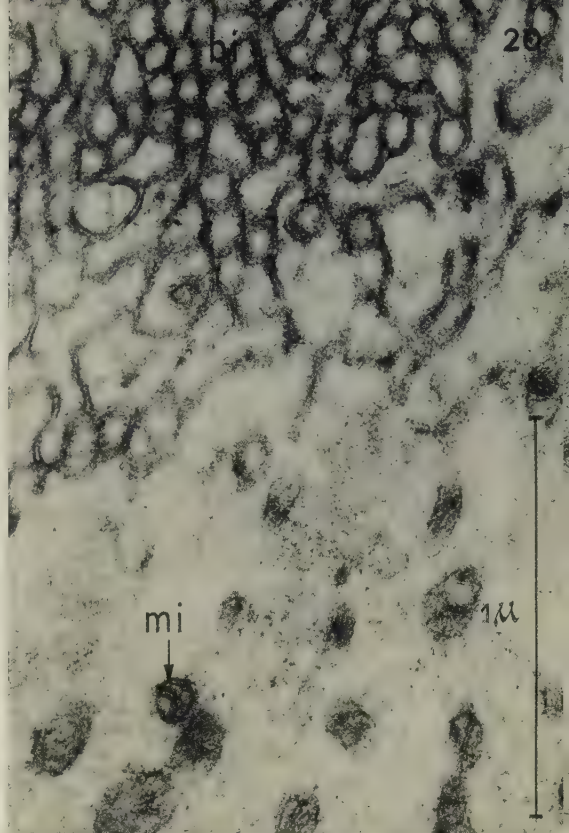


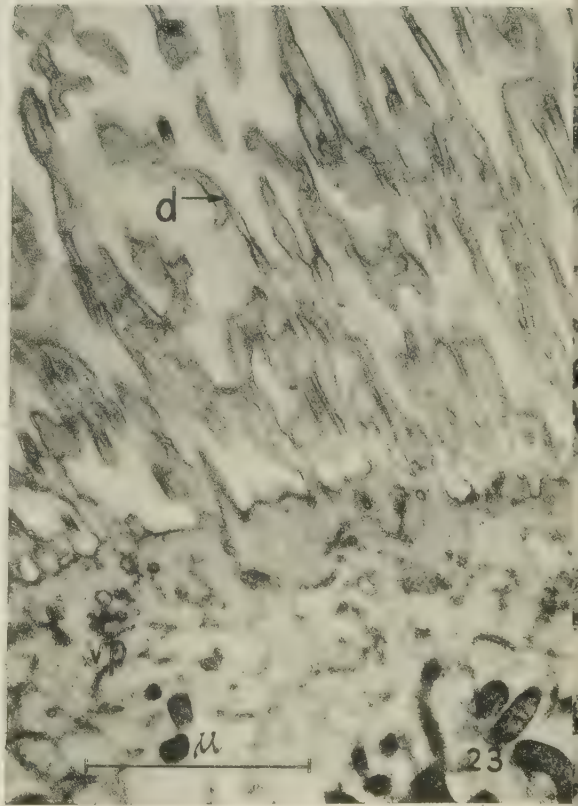
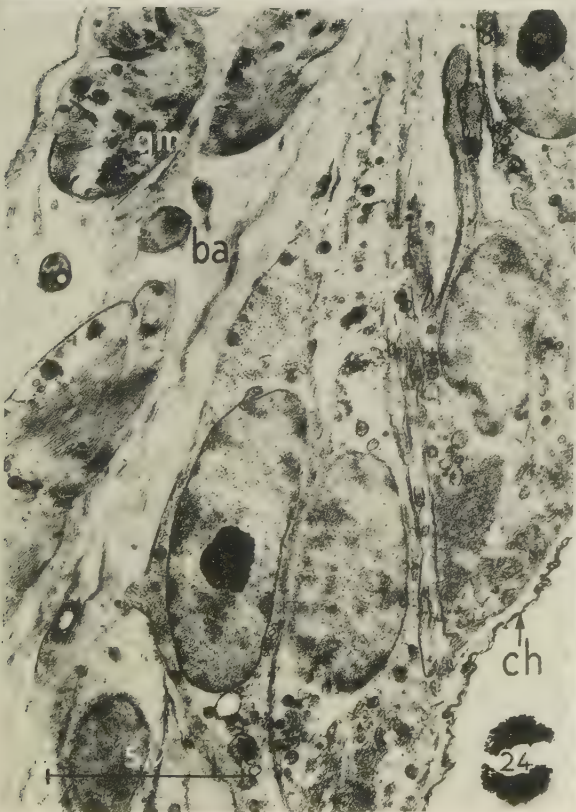
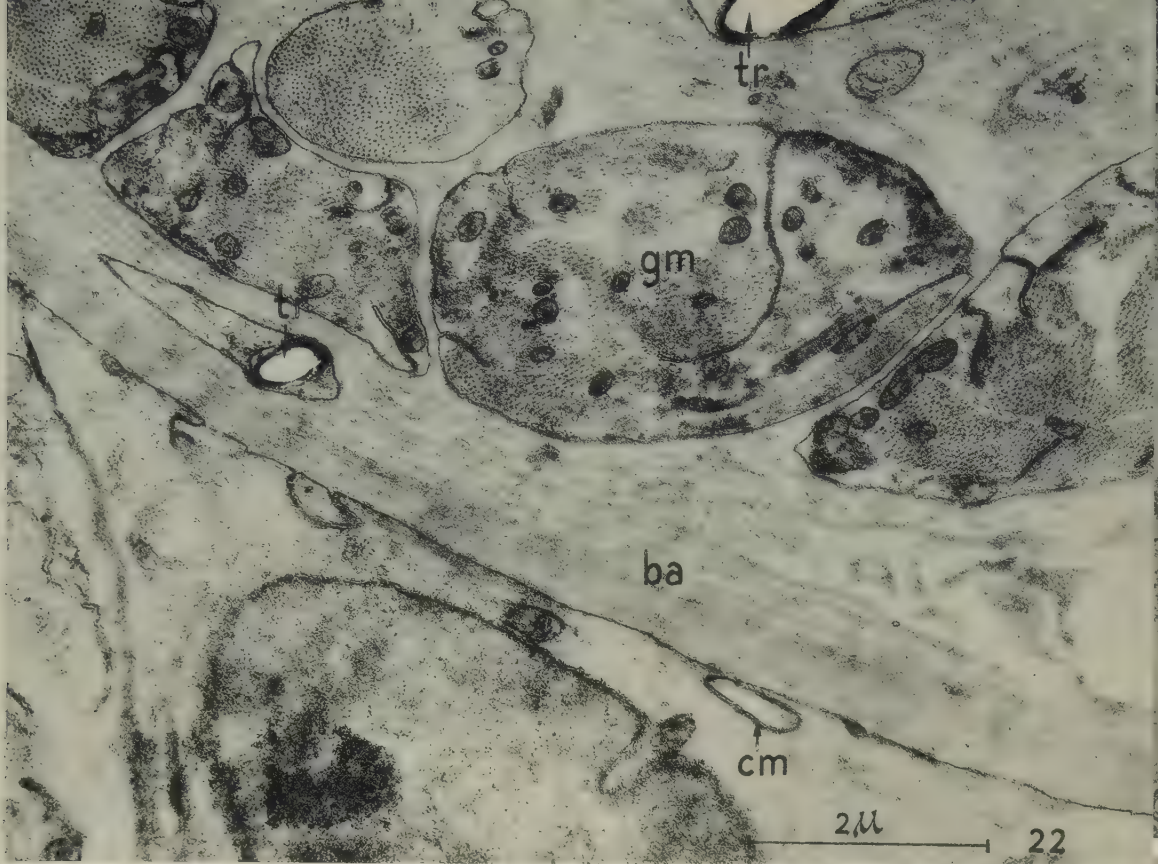


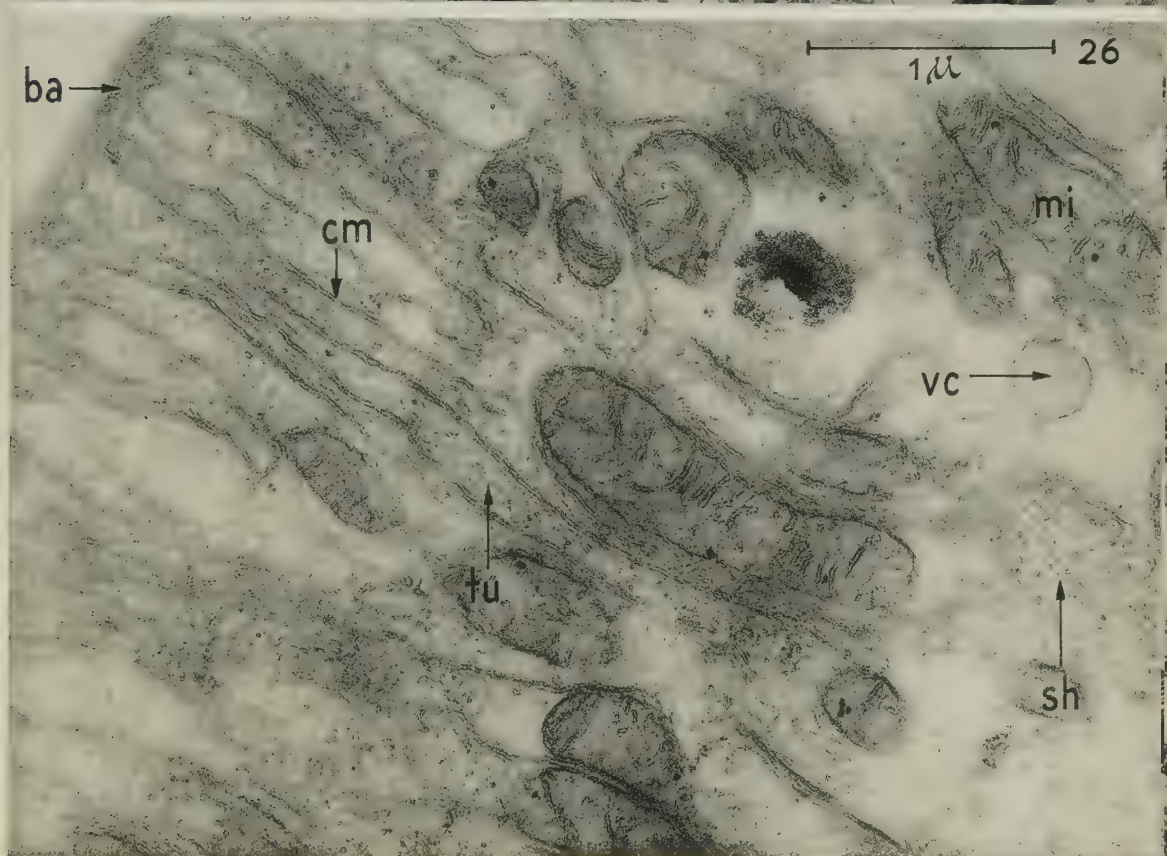
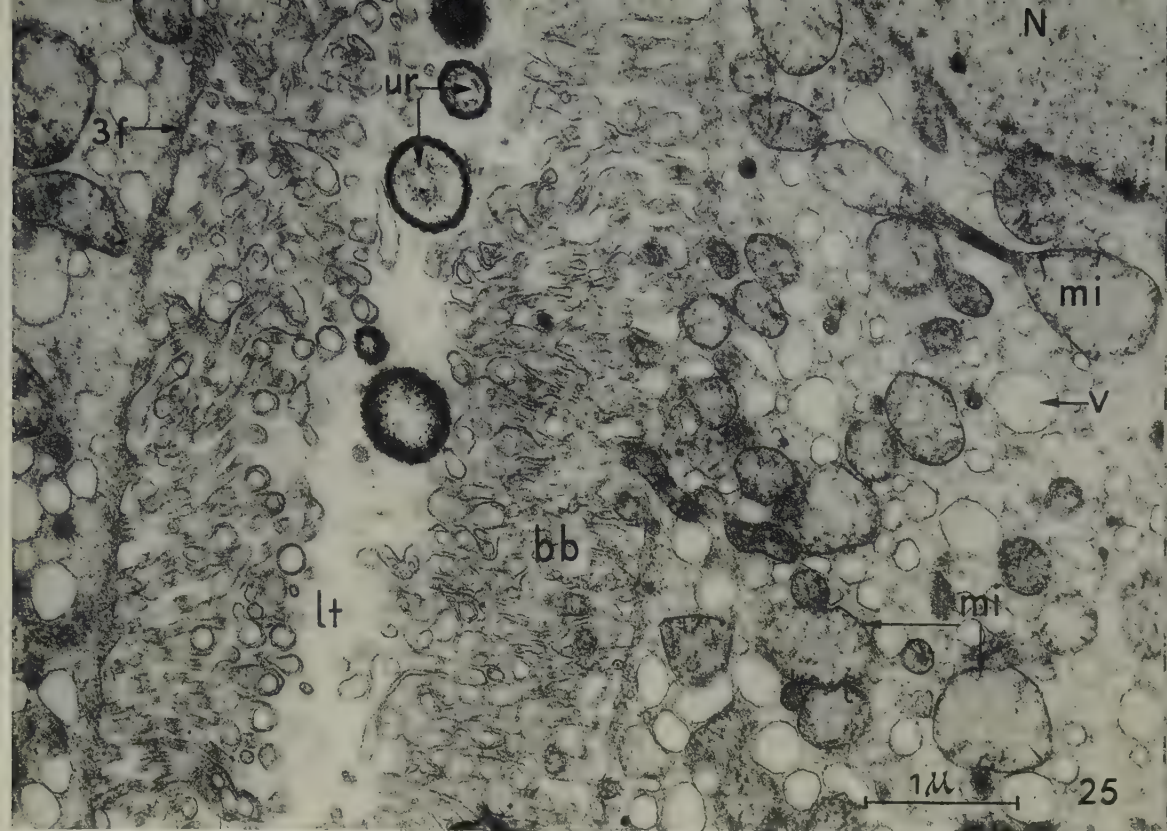


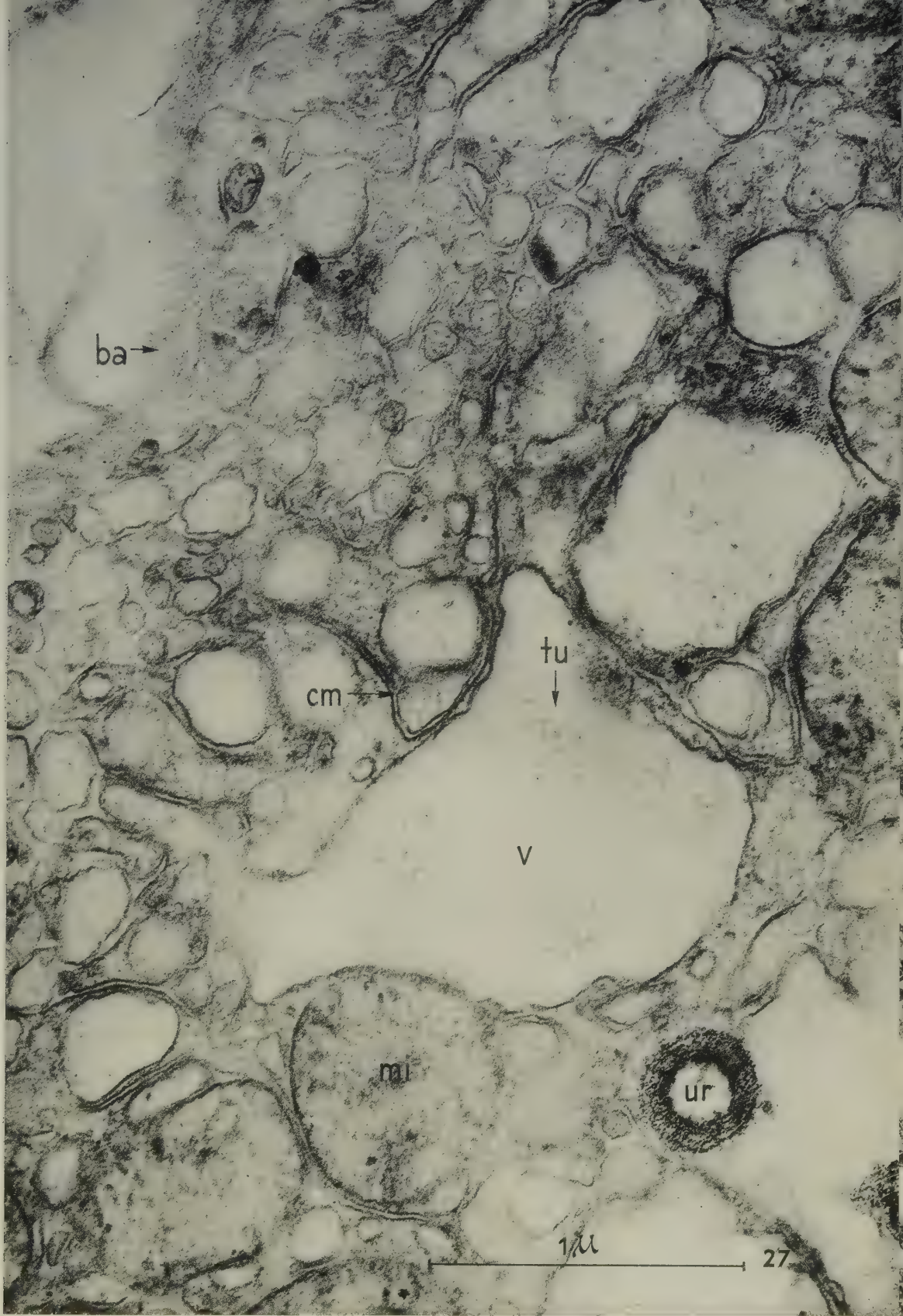


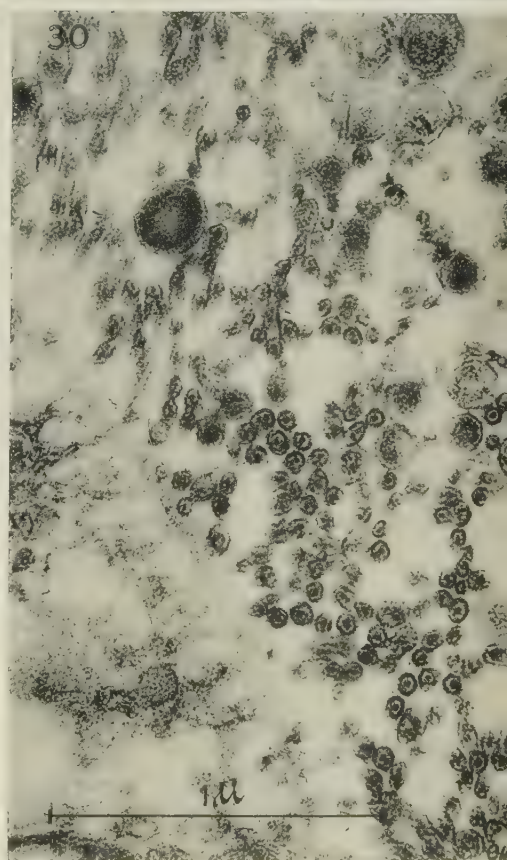
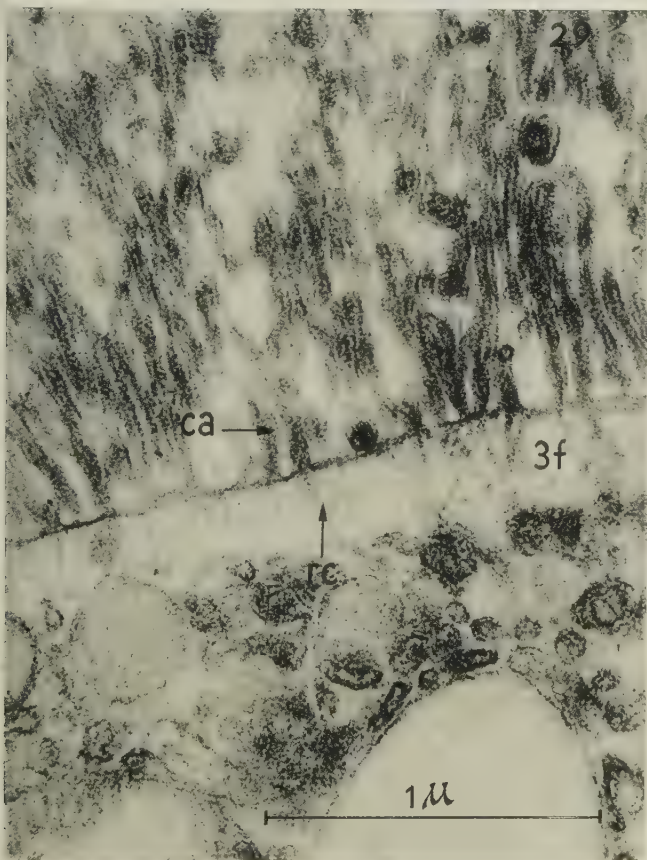
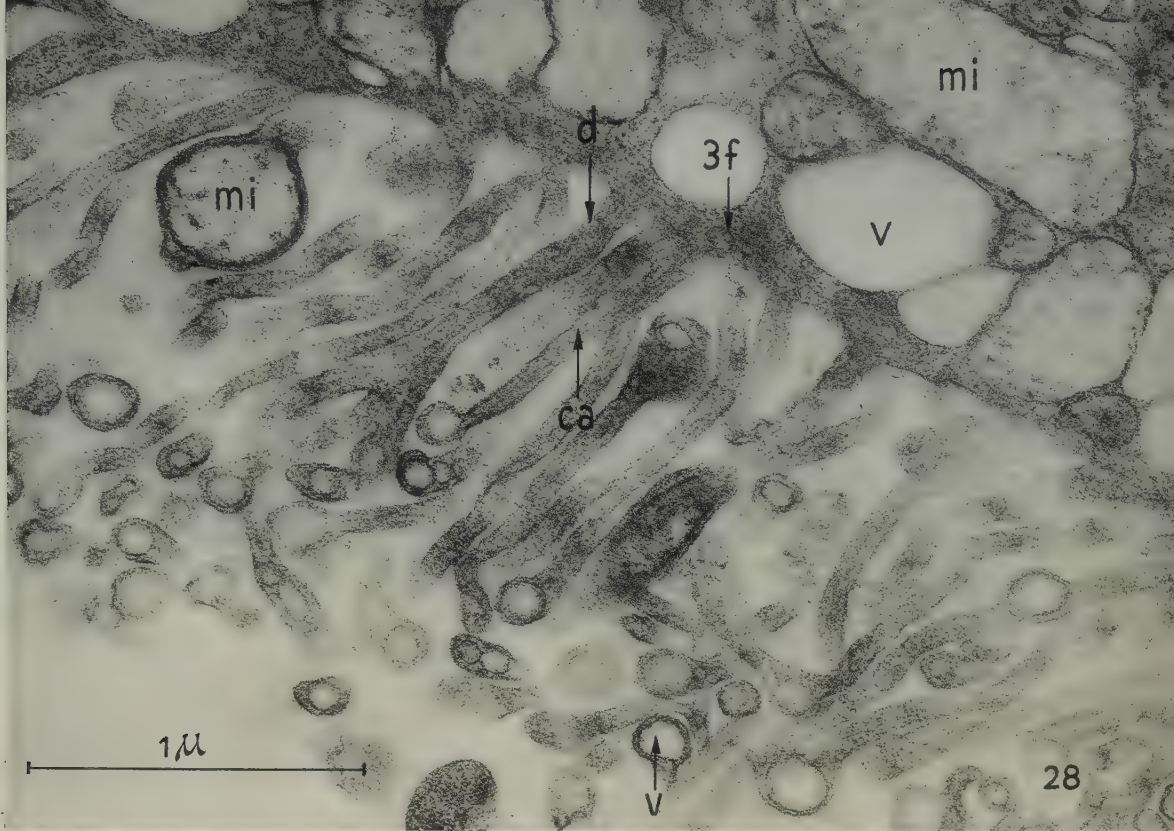


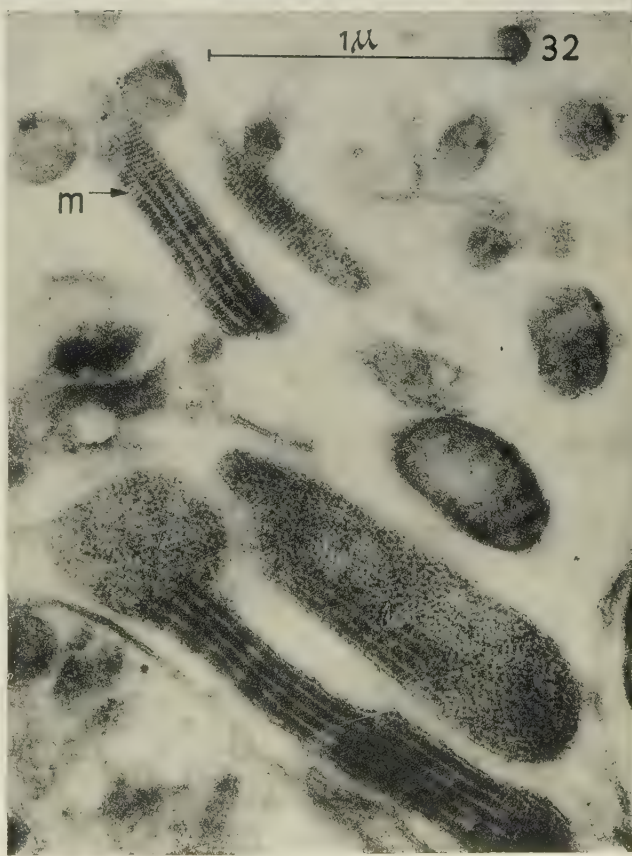
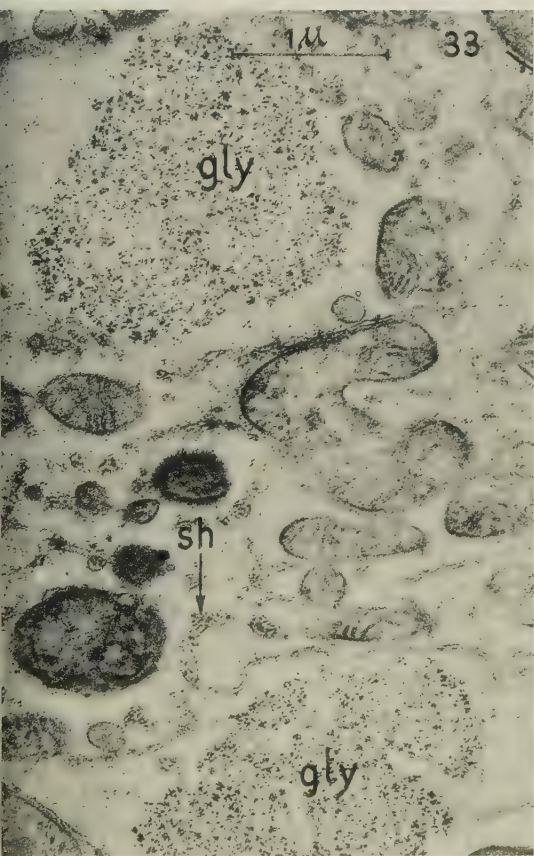
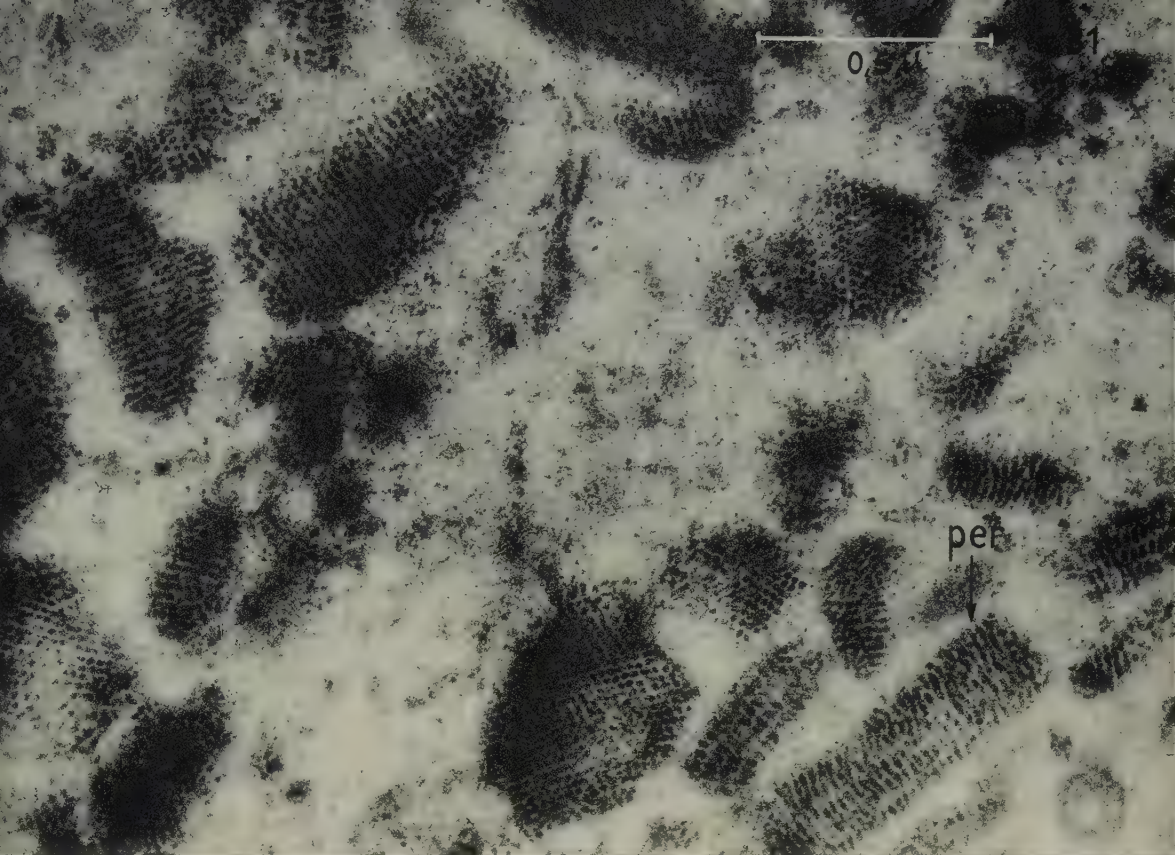


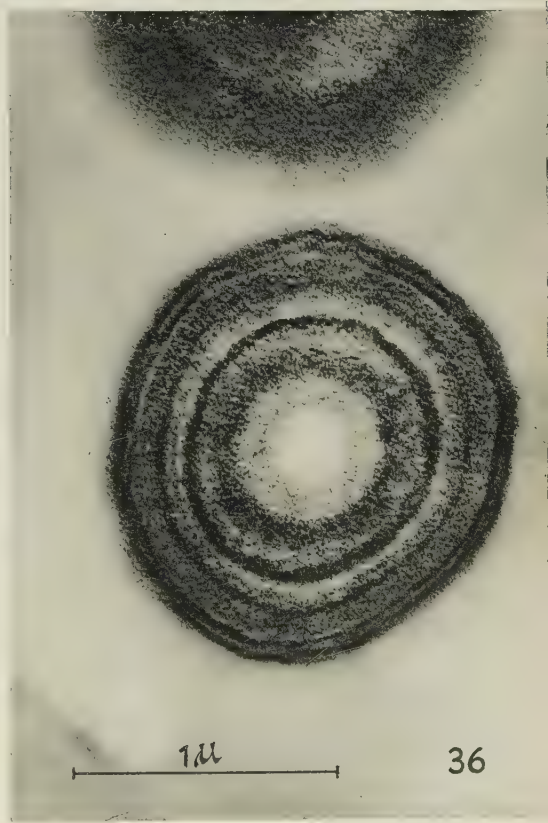
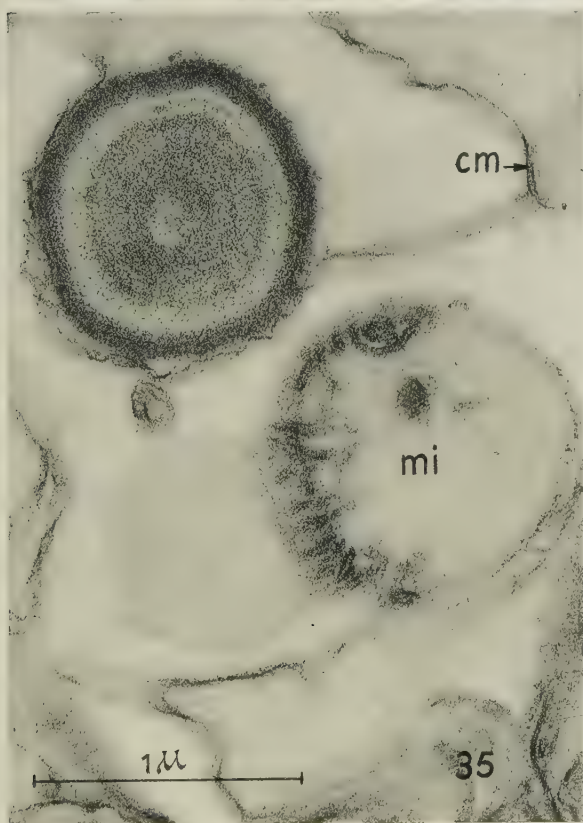
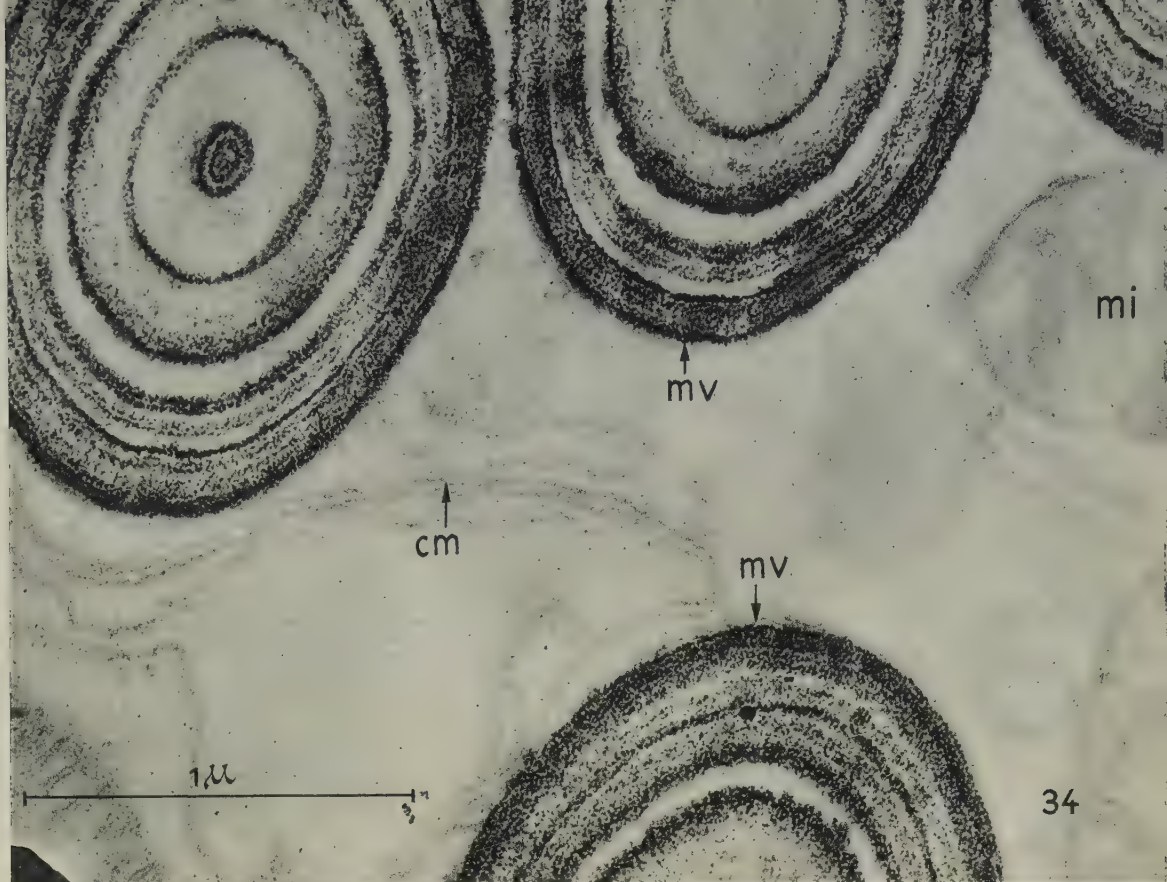


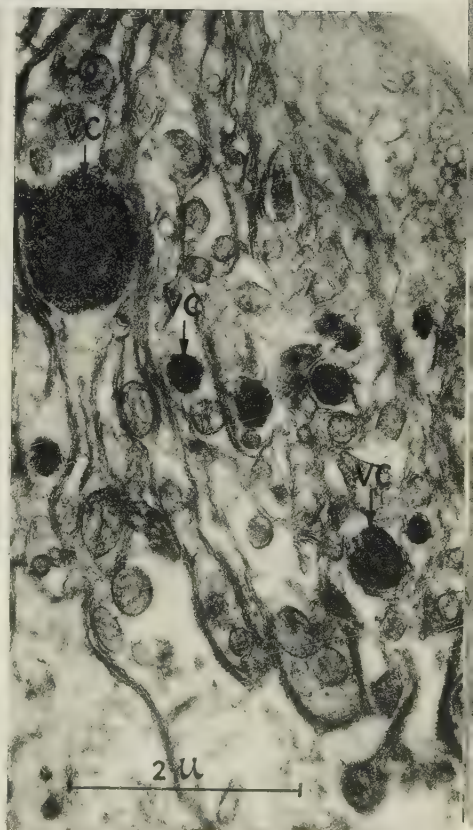
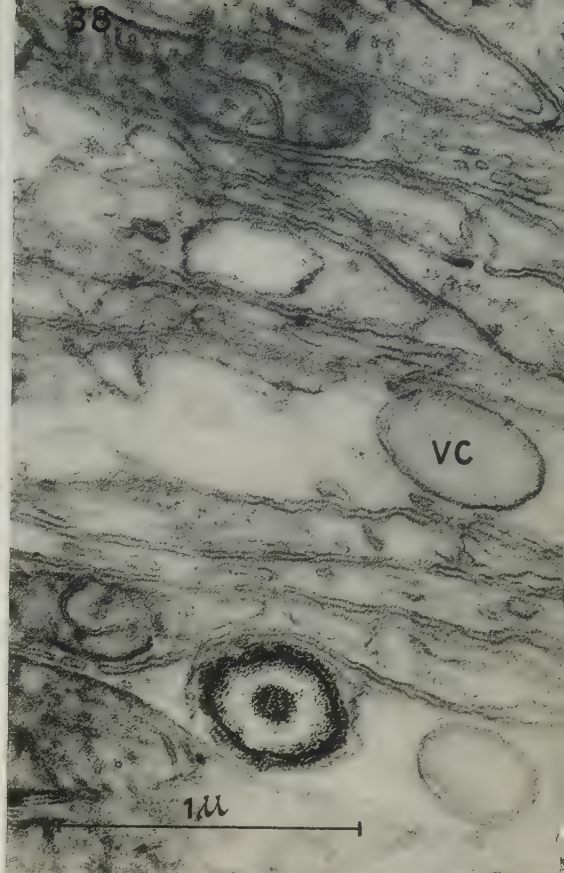
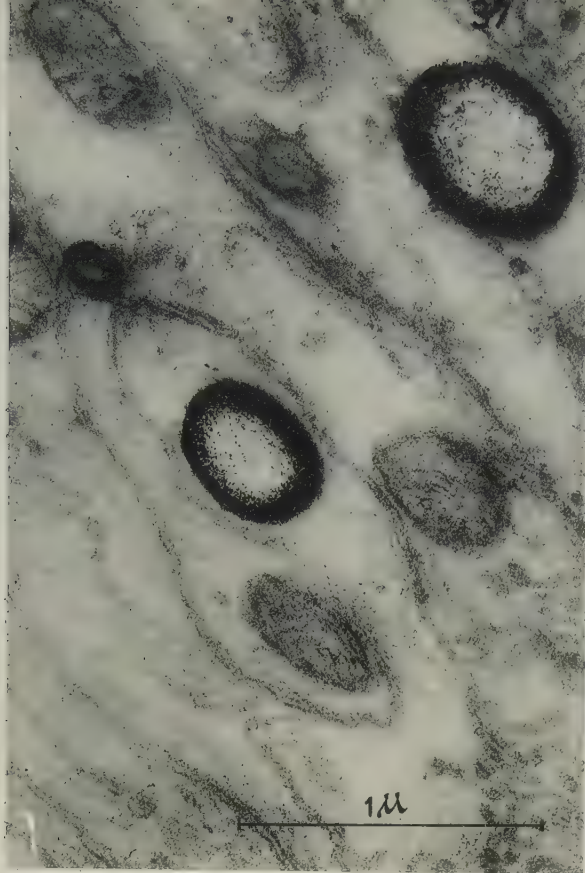


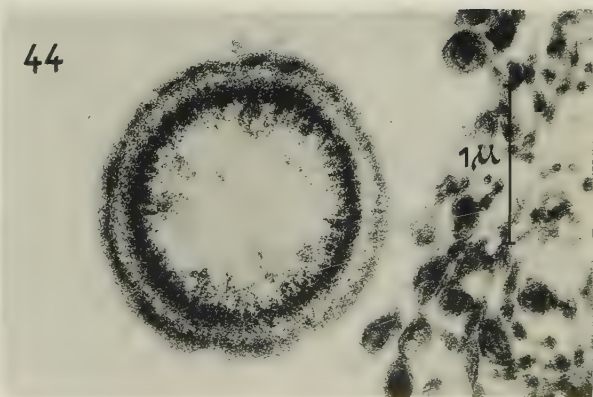
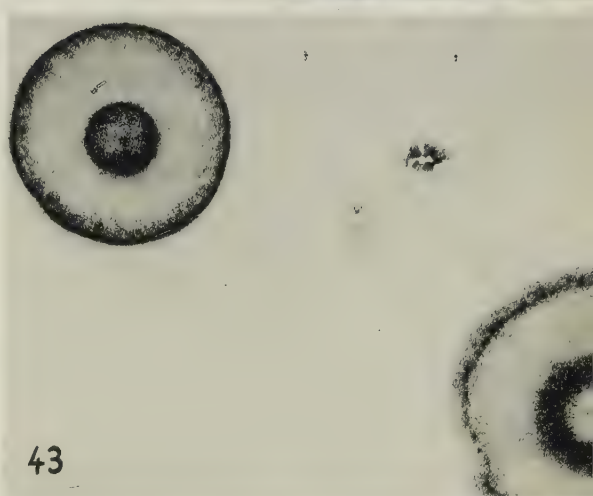
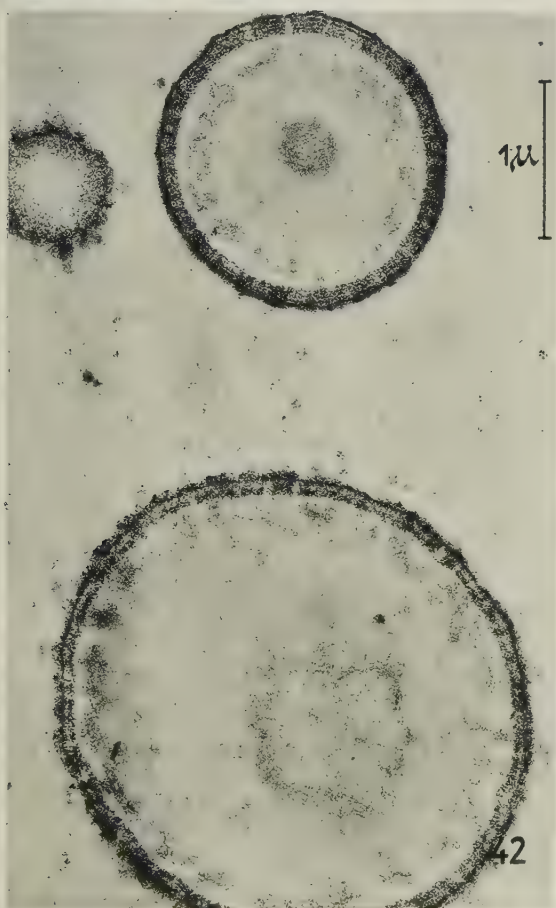
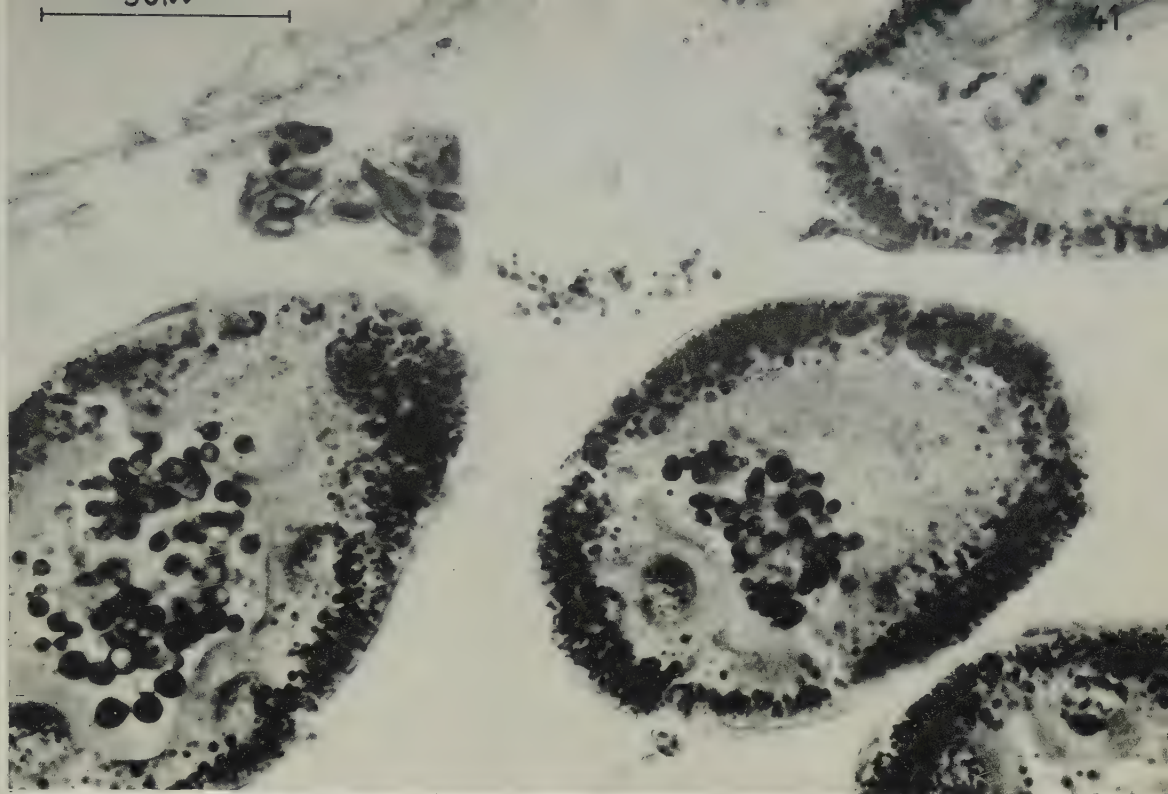


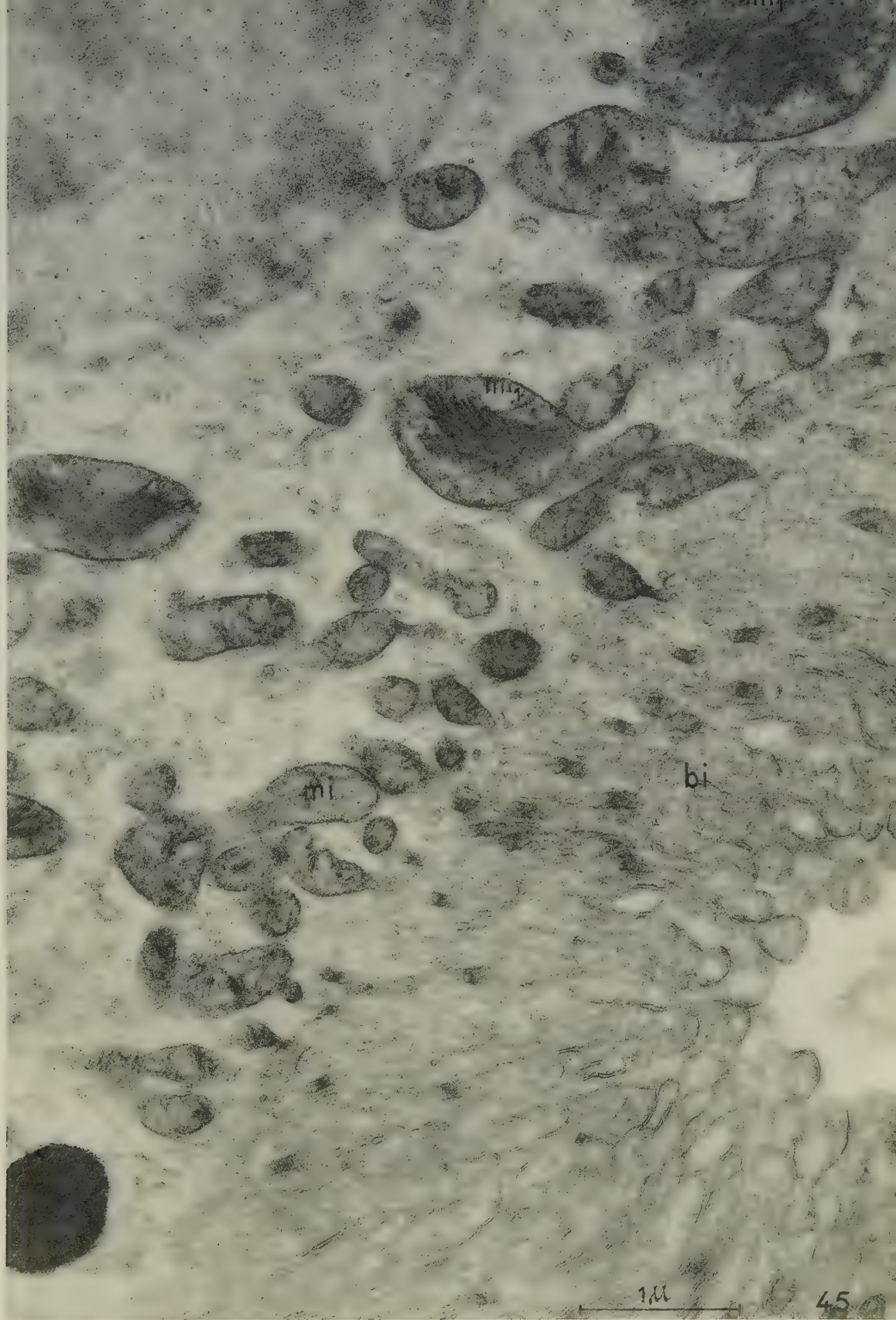


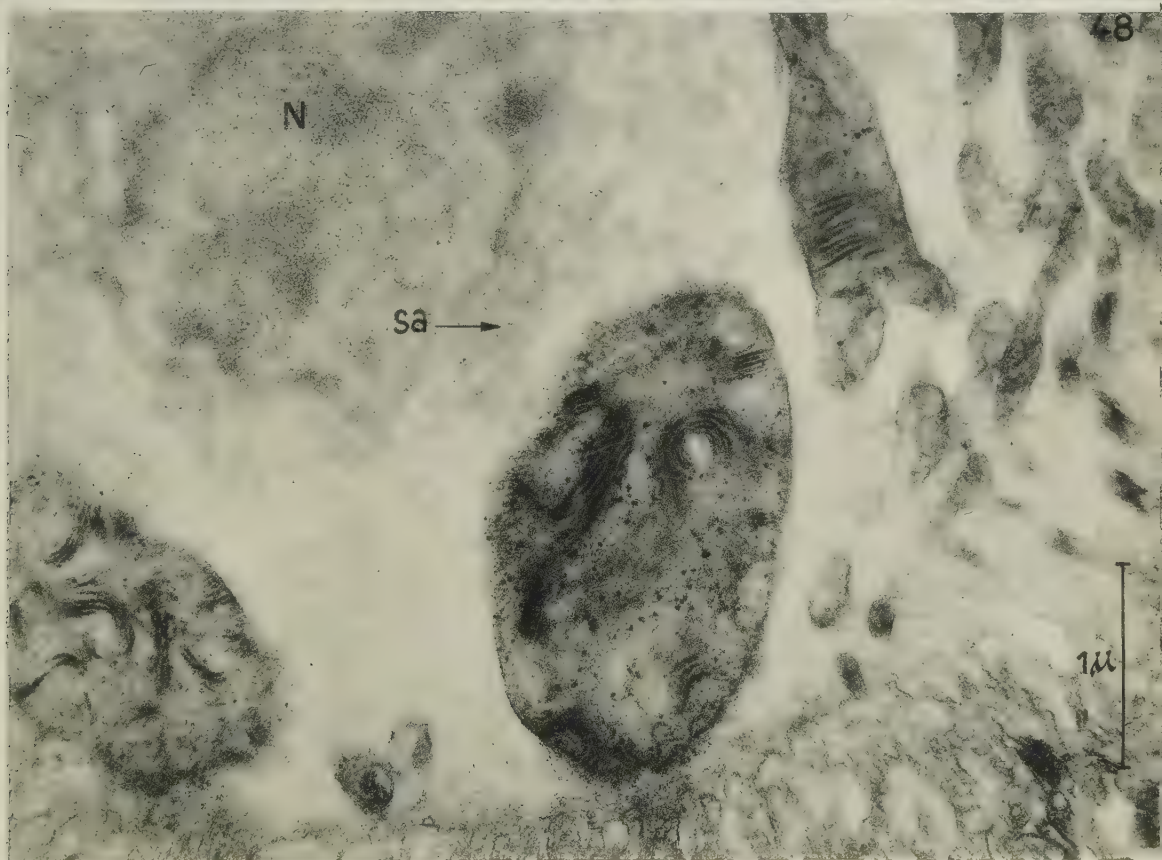
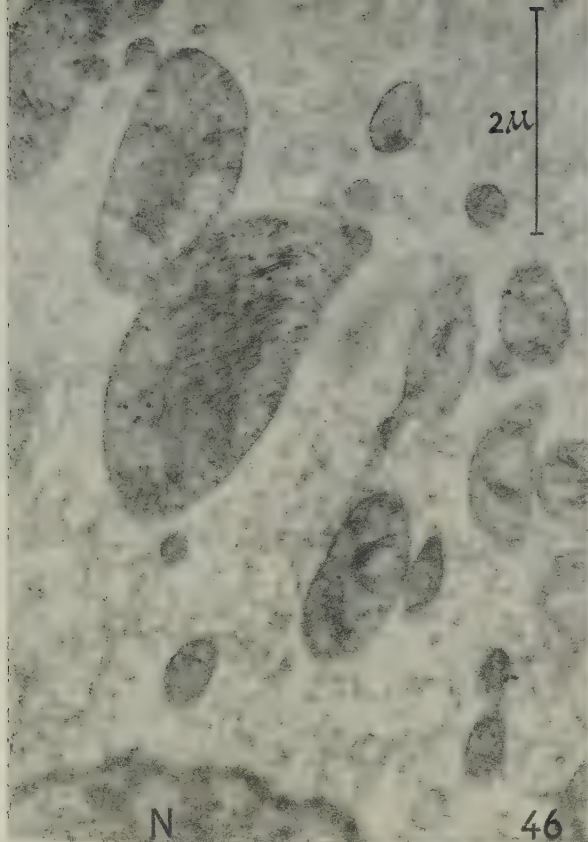


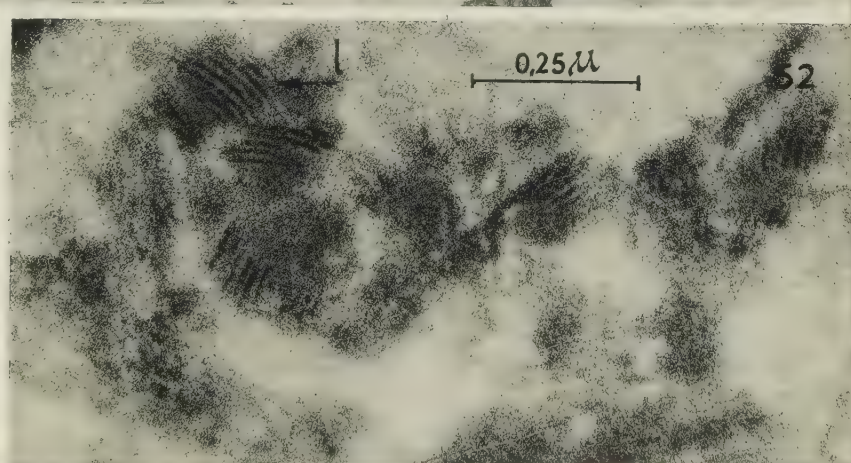
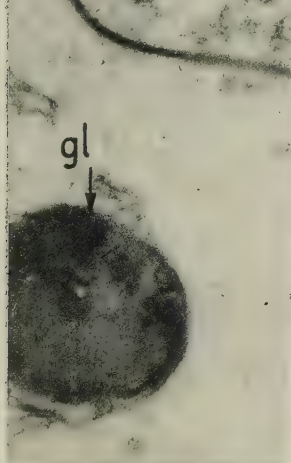
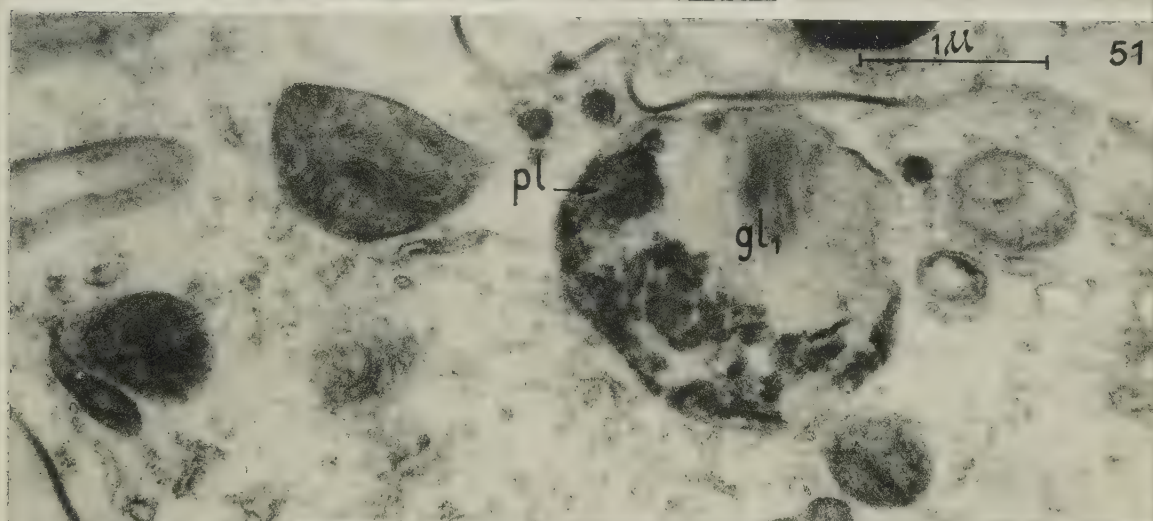
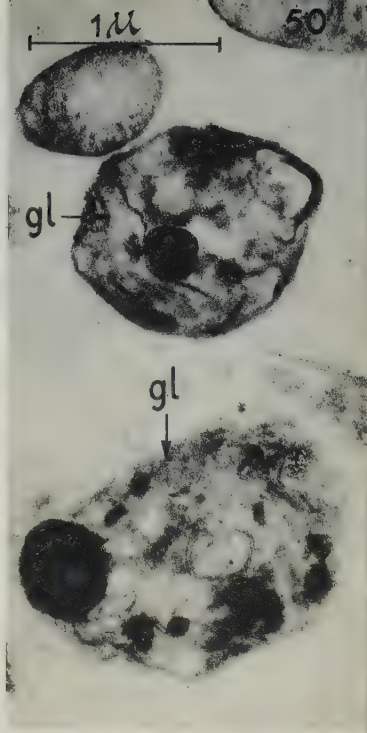
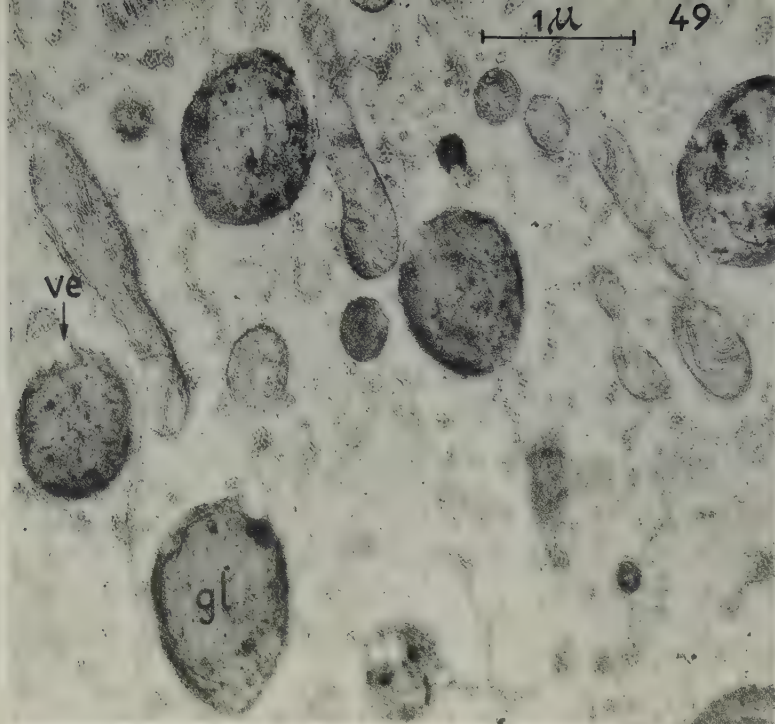


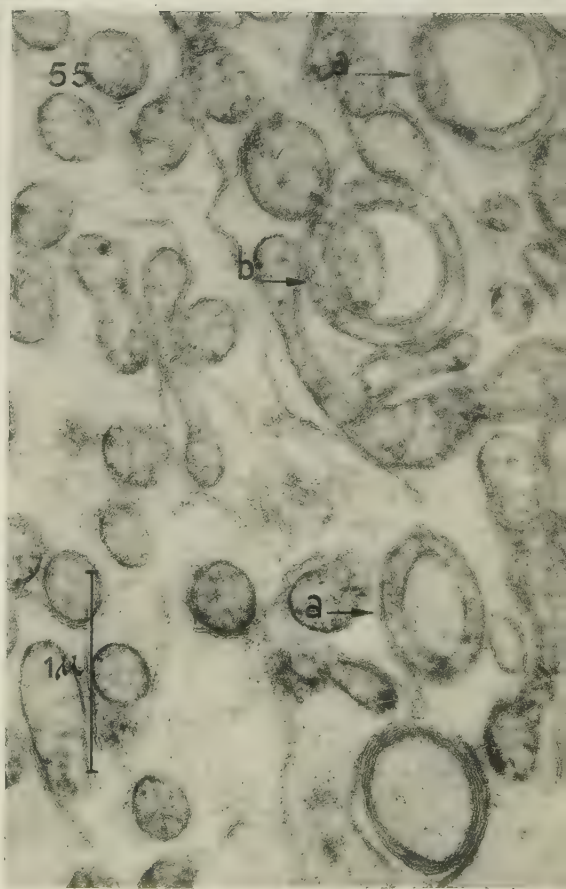
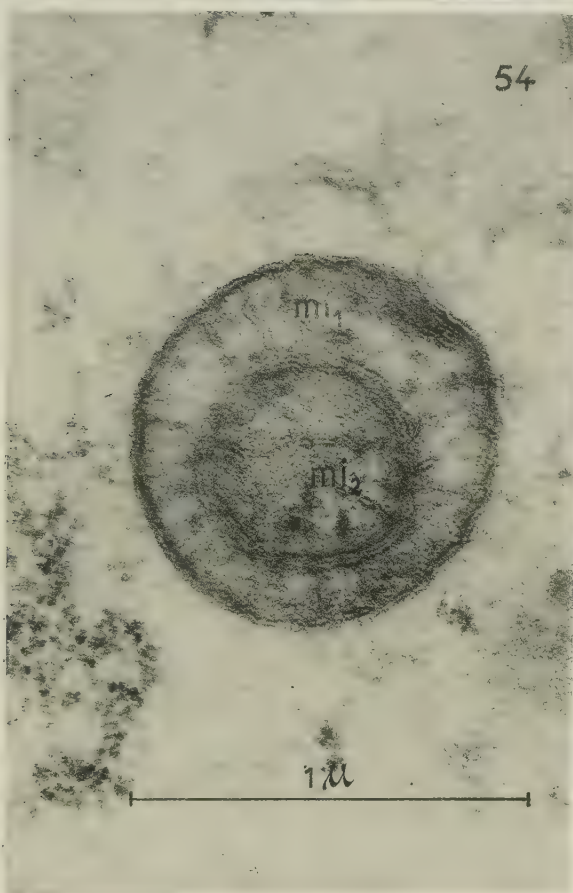
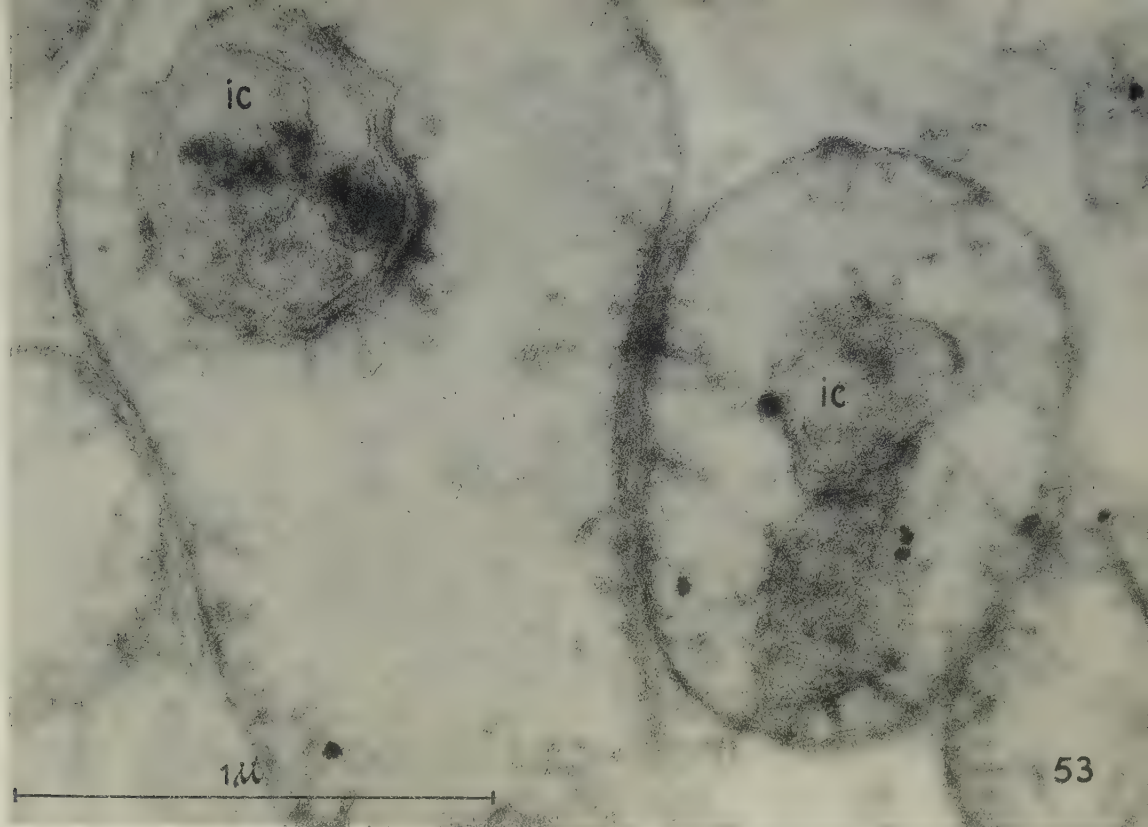


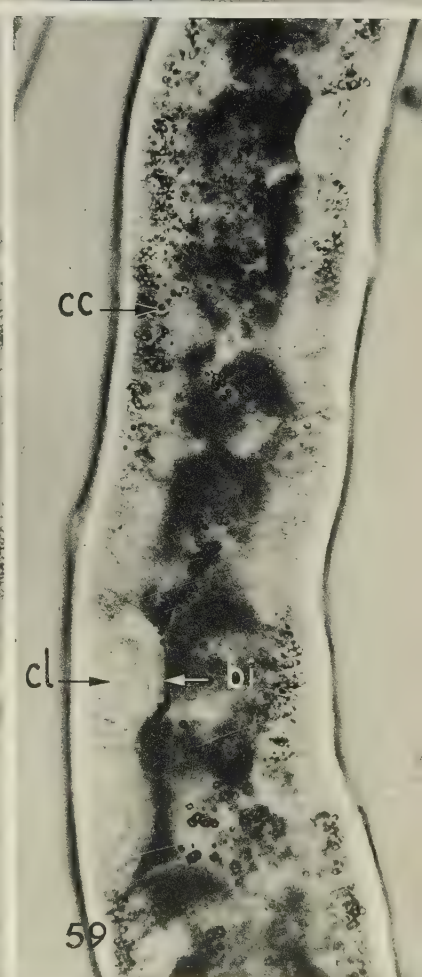
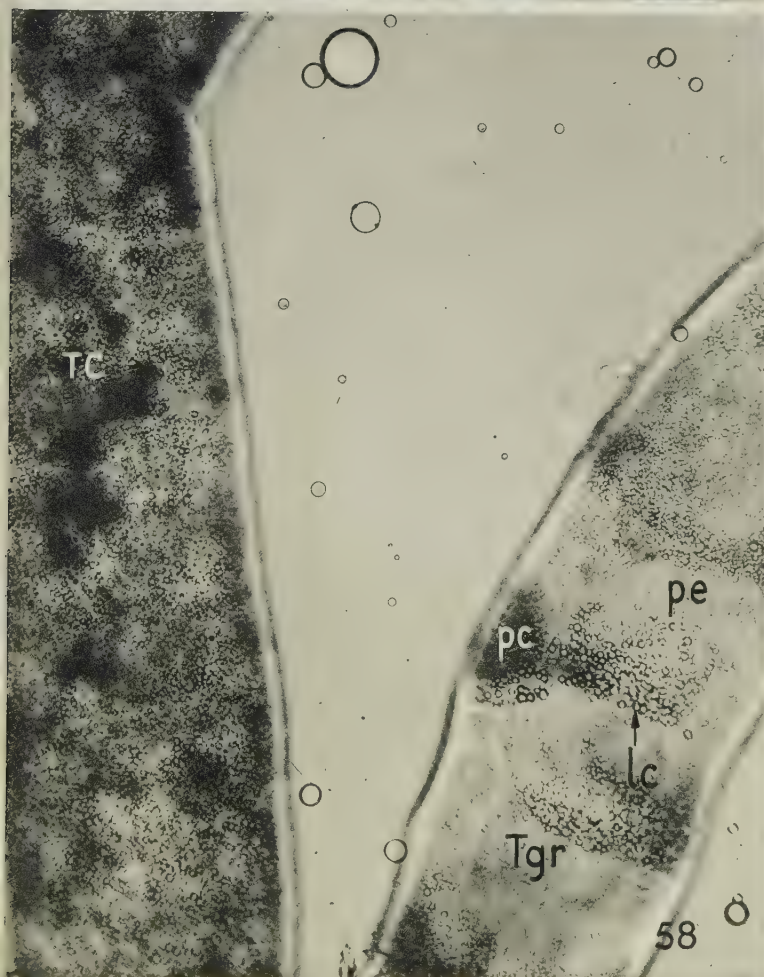
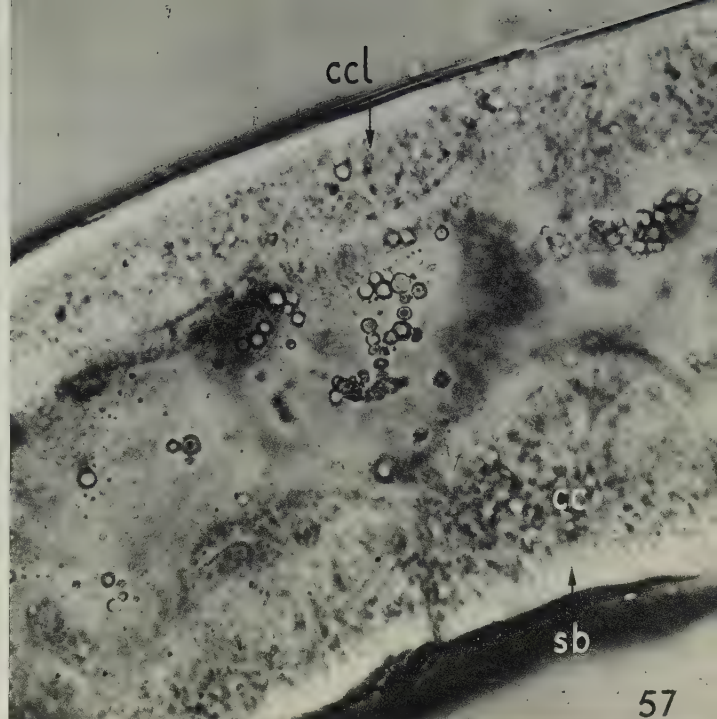
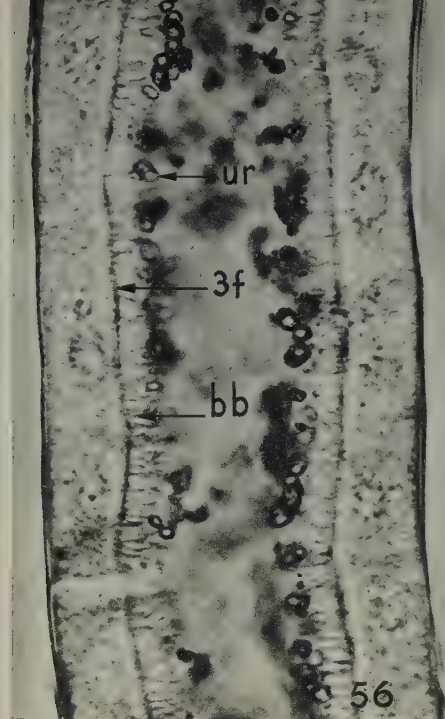




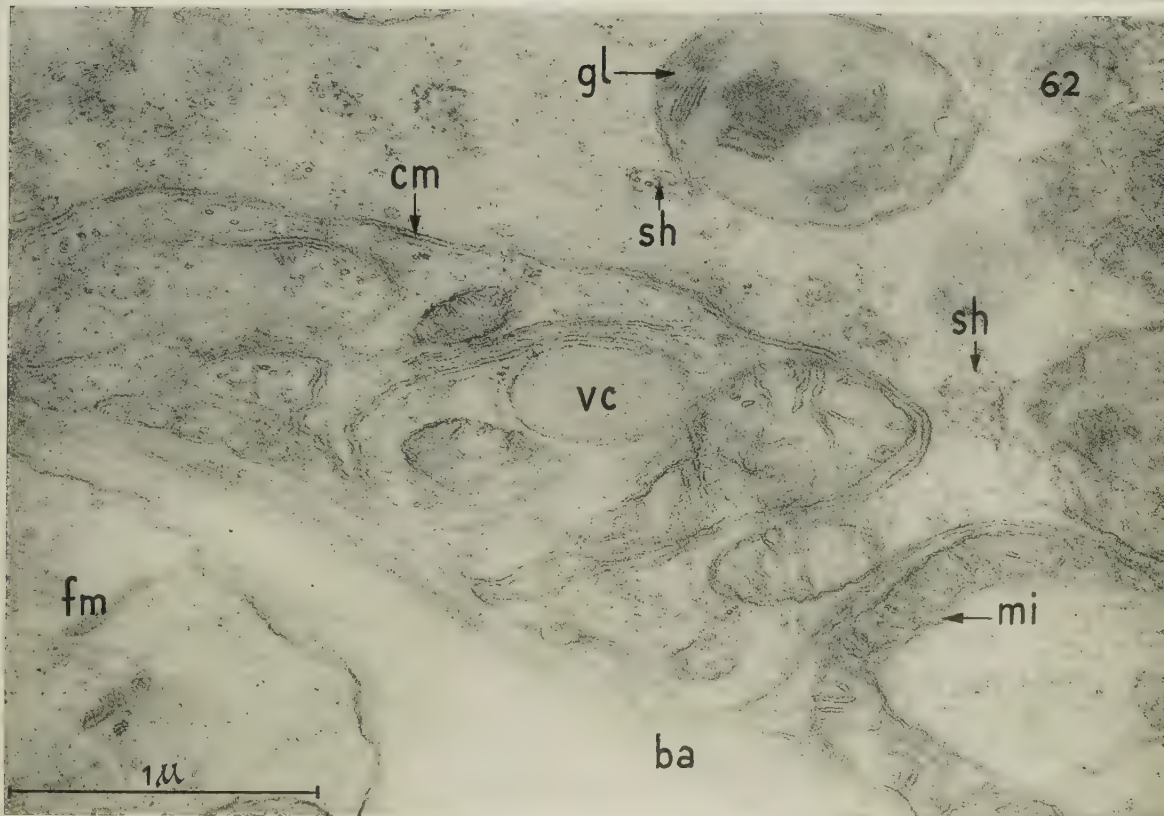


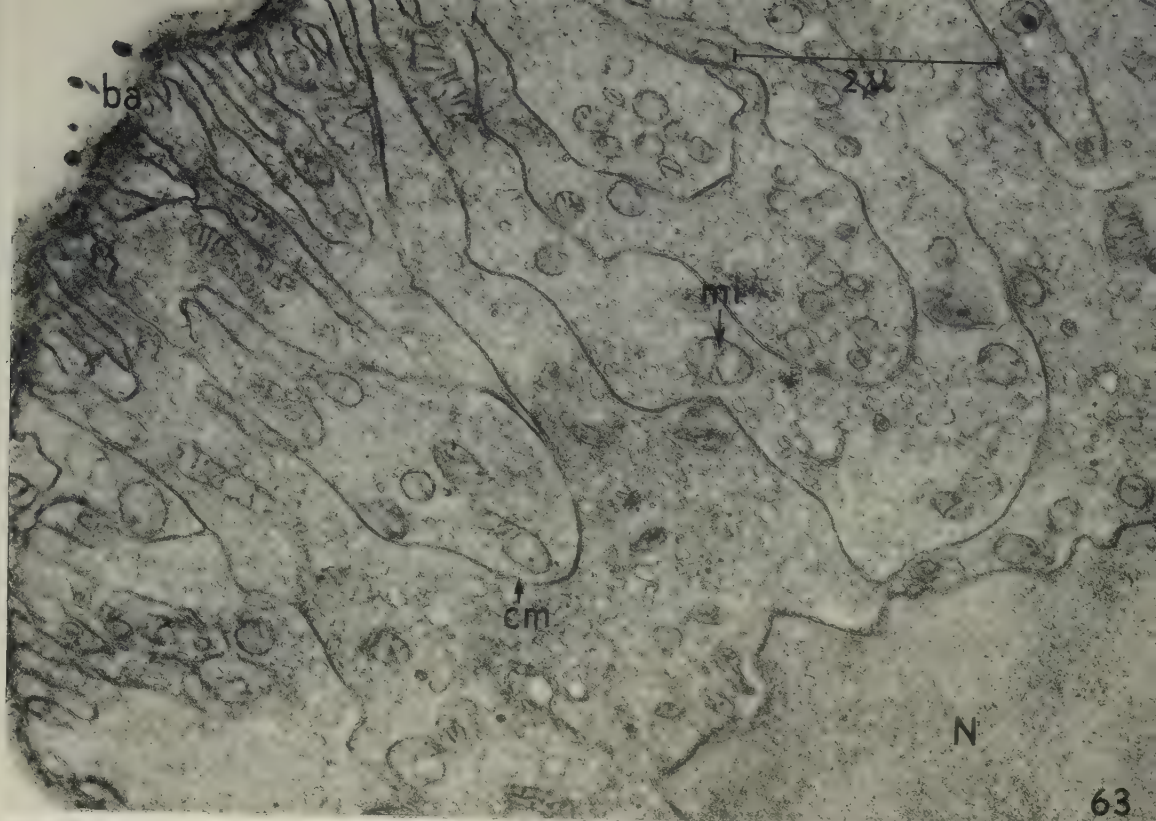




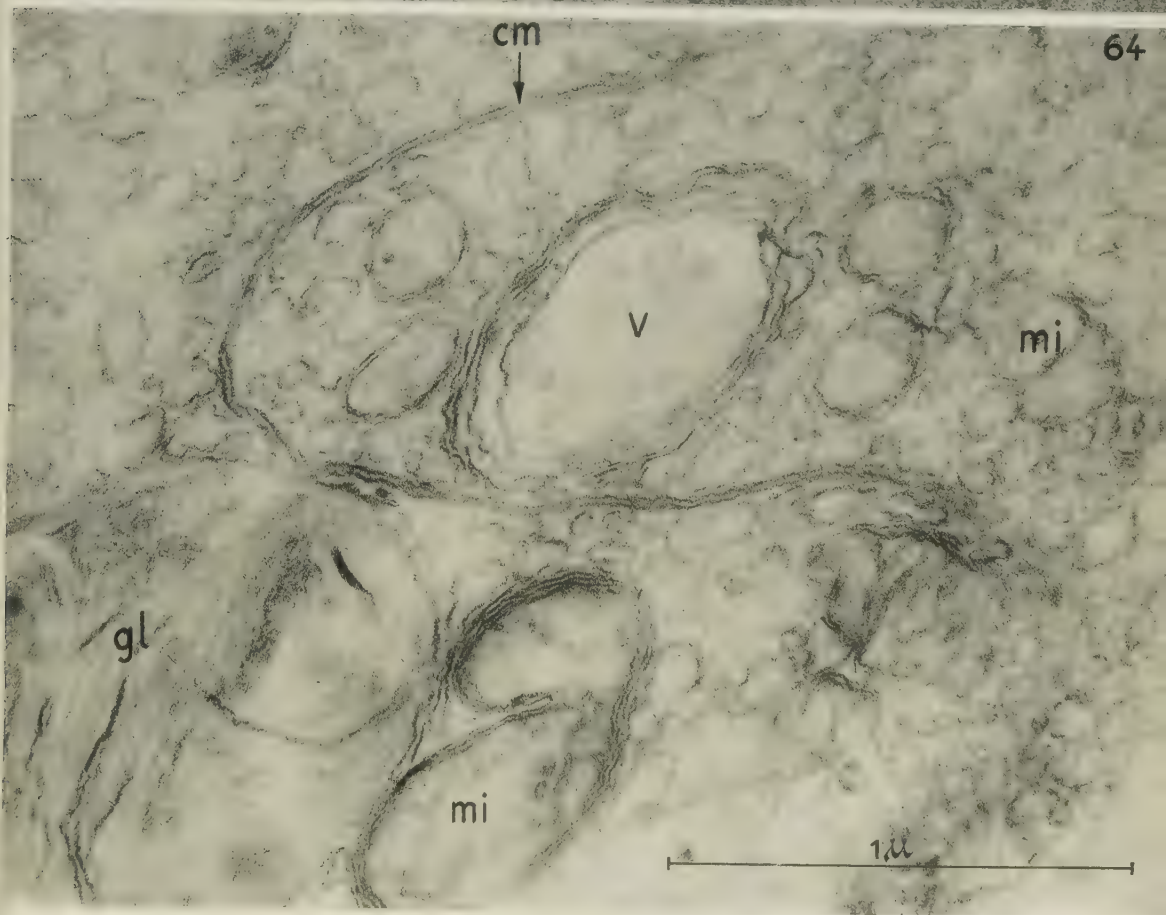








63



64

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

L'HISTOCHIMIE EN MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

Vu et approuvé :

Paris, le 1^{er} juin 1961.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PÉRÈS

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie
de Paris,

Jean SARRAILH

